



# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

### **CANCRO DE MAMA HEREDITÁRIO: MARCADORES GENÉTICOS**

Trabalho submetido por  
**Leonor de Sousa Morais**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

**Novembro de 2016**





# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

### **CANCRO DE MAMA HEREDITÁRIO: MARCADORES GENÉTICOS**

Trabalho submetido por  
**Leonor de Sousa Moraes**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por  
**Prof. Doutora Ana Clara Guerreiro de Oliveira Ribeiro**

**Novembro de 2016**



## **Dedicatória**

*À pessoa que me guiou pelo caminho certo,  
que contribuiu para aquilo que eu sou hoje, que me orientou, que me amou, que  
me viu lutar pelos sonhos, mas que infelizmente já não está comigo, como eu gostava!*

*A ti Mãe, minha estrela guia!*



## **Agradecimentos**

A realização desta tese de mestrado encerra a minha longa caminhada académica. Quero em geral agradecer a todos os que se cruzaram na minha vida ao longo destes cinco anos, e em especial àqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste projeto.

Quero agradecer em especial à Professora Doutora Ana Clara Ribeiro pelos anos de ensino, pela colaboração, pela acessibilidade e simpatia no apoio da realização desta tese de mestrado.

Agradeço à minha família, em especial ao meu Pai, por acreditar em mim e me apoiar incondicionalmente em todas as decisões da minha vida.

Aos meus avós, por me fazerem sonhar mais alto e me darem forças para lutar pelo que me faz feliz.

À minha madrinha por me fazer sentir especial, por ser a minha segunda mãe ao amparar as minhas quedas.

À Daniela Machado por ser a companheira que tanto partilhou comigo, obrigada pelo apoio e pela compreensão.

Aos meus restantes amigos, que me viram crescer nestes últimos cinco anos e que de alguma forma contribuíram para que nunca perdesse a motivação.

Ao meu companheiro de vida Tomás Godinho por acreditar em mim, obrigada pela força, pelo apoio e pelo carinho incondicional ao longo destes cinco anos.





## **Resumo**

O cancro de mama é atualmente uma das doenças que mais afeta o sexo feminino, a incidência tem vindo a aumentar ao longo dos anos levando a comunidade científica a aprofundar o conhecimento sobre os mecanismos que provocam a cancerização e qual o papel da genética neste processo.

Há 20 anos foram identificados os genes que contribuem para o desenvolvimento do cancro de mama hereditário, como os BRCA1 e BRCA2, até à data já foram identificados muitos mais, como o TP53, gene intimamente envolvido na regulação do ciclo celular.

Têm sido propostos vários genes de suscetibilidade ao cancro de mama, onde a deteção das mutações na população pode levar a um diagnóstico precoce do cancro hereditário, e consequentemente a um melhor prognóstico de tratamento.

Existem vários marcadores genéticos relevantes no cancro de mama hereditário, considerados marcadores tumorais, como os genes de relevância, BRCA1 e BRCA2, marcadores de origem bioquímica como antigénios e marcadores moleculares, usualmente mais conhecidos, como os recetores hormonais e o recetor do fator epidérmico humano 2 (HER2).

Os valores destes marcadores genéticos no estudo do cancro de mama hereditário podem ter valor prognóstico e / ou terapêutico, como os recetores hormonais, e o HER2, o antigénio Ki-67, ou auxiliar na identificação da população suscetibilidade para o cancro da mama hereditário, como os genes.

Os marcadores genéticos, no cancro de mama, são utilizados em testes genéticos para determinação da doença, de mutações, de genes relevantes, avaliação do tipo de tumor, entre outros, como deteção de metástases ou recorrências. No cancro de mama hereditário estes marcadores são igualmente importantes, a sua compreensão é essencial para conseguirmos um diagnóstico precoce e um tratamento eficaz.

**Palavras-chave:** Cancro de mama hereditário; Marcadores genéticos; Marcadores Tumorais; Genes de predisposição genética.



## **Abstract**

Breast cancer is currently one of the diseases that most affects the female sex, incidence has been increasing over the years leading the scientific community to deepen knowledge about the mechanisms that cause cancerization and what is the role of genetics in this process.

For 20 years, genes that contribute to the development of hereditary breast cancer, such as BRCA1 and BRCA2, have been identified. To date, many more have been identified, such as the TP53, gene involved in the cell cycle regulation.

Several genes have been proposed for susceptibility to breast cancer, where a detection of diseases in the population can lead to a pre-medical diagnosis of hereditary cancer, and consequently to a better prognosis of treatment.

There are several relevant genetic markers in hereditary breast cancer, which are considered tumor markers, such as relevance genes, BRCA1 and BRCA2, markers of biochemical origin such as antigens and molecular markers, commonly known as hormone receptors and human epidermal factor receptor 2 (HER2).

The values of these genetic markers in the study of hereditary breast cancer may have prognostic and / or therapeutic value, such as hormone receptors, and HER2, Ki-67 antigen or help the identification of population's susceptibility to hereditary breast cancer, such as genes.

Genetic markers in breast cancer are applied in genetic tests for the determination of disease, mutations, relevant genes, tumor type evaluation, among others, such as detection of metastases or recurrences. In hereditary breast cancer these markers are important, your understanding is essential to get a medical diagnosis and an effective treatment

**Keywords:** Hereditary breast cancer; Genetic markers; Tumor Markers; Genetic predisposition genes.



## Índice Geral

<b>Resumo</b> .....	1
<b>Abstract</b> .....	3
<b>Índice figuras</b> .....	7
<b>Índice tabelas</b> .....	9
<b>Lista de abreviaturas</b> .....	11
<b>1. Introdução</b> .....	13
<b>2. Cancro de mama</b> .....	17
2.1. Anatomia e fisionomia da mama .....	17
2.2. Fatores de risco .....	19
2.3. Ciclo celular no cancro de mama .....	26
2.4. Regulação do ciclo celular no cancro de mama .....	28
2.5. Carcinogénese ou Cancerigénese .....	31
<b>3. Cancro de mama hereditário</b> .....	35
3.1. Cancro de mama esporádico versus cancro de mama hereditário .....	35
3.2. Tipos de cancro de mama hereditário .....	36
<b>4. Marcadores Genéticos</b> .....	41
4.1. Marcador de proliferação Ki-67 (MKI67) .....	43
4.2. CA 15-3 e CEA .....	44
4.3. Genética do cancro de mama hereditário .....	46
4.3.1. Penetrância dos genes de predisposição genética no cancro de mama .....	47
4.4. Gene TP53 .....	49
4.5. Genes BRCA .....	51
4.5.1. Gene BRCA1 .....	51
4.5.2. Gene BRCA2 .....	52
4.5.3. Mutações nos genes BRCA1 e BRCA2 .....	54
4.6. Outros genes de alta penetrância .....	56
4.7. Genes de moderada penetrância .....	56
4.8. Genes de baixa penetrância .....	57
4.9. Recetores hormonais (HR) .....	58
4.9.1. Recetores de Estrogénio (ER) .....	58
4.9.2. Recetores de Progesterona (PR) .....	59

4.9.3. Expressão de ER e PR no cancro de mama hereditário .....	60
4.10. Recetor ipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER2) .....	61
<b>5. Conclusão .....</b>	<b>63</b>
<b>6. Referências bibliográficas .....</b>	<b>67</b>
<b>ANEXOS</b>	

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> – Tumores mais frequentes no sexo feminino em 2010 .....	13
<b>Figura 2</b> – Anatomia mama .....	17
<b>Figura 3</b> – Drenagem linfática da mama .....	18
<b>Figura 4</b> – Ciclo celular, dividido em duas grandes fases: Interfase e Mitose .....	26
<b>Figura 5</b> – Fases da mitose .....	27
<b>Figura 6</b> – Fases do ciclo celular em que as ciclinas atuam .....	29
<b>Figura 7</b> – Processo carcinogénico .....	32
<b>Figura 8</b> – Carcinoma ductal <i>in situ</i> .....	37
<b>Figura 9</b> – Carcinoma lobular <i>in situ</i> .....	38
<b>Figura 10</b> – Localização do gene BRCA1 .....	51
<b>Figura 11</b> – Localização do gene BRCA2 .....	53





## Índice de Tabelas

<i>Tabela 1</i> – BCRA1 .....	25
<i>Tabela 2</i> – Mutações mais comuns nos genes BCRA1 e BCRA2 em alguns países da Europa .....	55



## **Lista de Abreviaturas**

**ADN** – Ácido desoxirribonucleico  
**ASCO** – *American Society of Clinical Oncology*  
**ATM** - *Ataxia-Telangiectasia mutated*  
**Basc** – *BRCA1-associated genome surveillance complex*  
**BARD** – *BRCA1 associated RING domain 1*  
**BCRAT** – *Breast Cancer Risk Assessment Tool*  
**BRCA1** – *Breast Cancer Early Onset Gene 1*  
**BRCA2** – *Breast Cancer Early Onset Gene 2*  
**BRIP1** – *BRCA1 interacting protein C-terminal helicase 1*  
**CA 15-3** – Antígeno do cancro de mama 15-3  
**c-Abl** – *Oncogene 1, Non-Receptor Tyrosine Kinase*  
**CAP** – *College of American Pathologists*  
**CEA** – Antígeno carcino-embrionário  
**CHEK2** – Cell Cycle Checkpoint kinase 2  
**CDK** – Quinase dependente de ciclina  
**CDH1** – *Cadherin-1*  
**CK5** – citoquina 5  
**DCIS** – Carcinoma ductal *in situ*  
**EGFR** – Recetor do fator de crescimento epidérmico  
**ESR1** – Gene do recetor de estrogénio 1  
**ESR2** – Gene do recetor de estrogénio 2  
**ER** – Recetor de estrogénio  
**HR** – Recetores Hormonais  
**HER2** – Recetor do fator de crescimento epidérmico 2  
**GADD45** – *Grow arrest and DNA damage 45*  
**Gene Rb** – Gene retinoblastoma  
**GS** – Gânglio sentinela  
**IBC** – Cancro de mama inflamatório  
**IDC** – Carcinoma ductal invasivo  
**IHC** – Imunohistoquímica  
**ILC** – Carcinoma lobular invasivo

**Ki-67** – Antígeno Ki-67  
**LCIS** – Carcinoma lobular *in situ*  
**Lfs** – Síndrome Li-Fraumeni  
**MKI67** – Marcador de proliferação Ki-67  
**MMR** – *DNA Mismatch repair genes*  
**MUC1** – *Mucin 1, Cell Surface Associated*  
**NBS1** – *Nijmegen breakage syndrome 1*  
**NCCN** – *National Comprehensive Cancer Network*  
**NCI** – *National Cancer Institute*  
**PALB2** – *Partner and Localizer of BRCA2*  
**PGR** – Recetor de progesterona  
**p21** – Proteína 21  
**p73** – Proteína 73  
**p53** – Proteína 53  
**PR** – Recetor de progesterona  
**PTEN** – *Phosphatase and Tensin Homolog Deleted on Chromosome Ten*  
**RAD50** – *Double Strand Break Repair Protein 50*  
**RAD51** – *Double Strand Break Repair Protein 51*  
**RAD51c** – *Double Strand Break Repair Protein 51c*  
**RAD51d** – *Double Strand Break Repair Protein 51d*  
**Rad9** – *Checkpoint clamp complex protein Rad9*  
**SERD** – “downregulators” seletivos do estrogénio  
**SERM** – Moduladores seletivos do recetor de estrogénio  
**STK11** – *Serine Threonine Kinase 11*  
**TNBC** – Cancro de mama Triplo Negativo  
**TP53** – Proteína de tumor 53  
**TSH** – Terapia hormonal de substituição  
**WHO** – Organização mundial de saúde

## 1. Introdução

O “Cancro de mama hereditário: marcadores genéticos” foi o tema proposto para a realização do trabalho final de curso, com o objetivo da obtenção do grau de mestre no Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, no Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz.

Atualmente, o cancro é um problema de saúde comum, que afeta milhões de pessoas em todo o mundo. Segundo a direção geral de saúde está estipulado que por ano cerca de 8 milhões de pessoas morrem com cancro, estes números estão em constante crescimento, tornando o cancro um problema emergente. Estima-se que nas próximas décadas este número venha a aumentar para o dobro. É importante a sensibilização de toda a população para um rastreio minucioso, a deteção de um problema oncológico deve ser o mais cedo possível. (Direção Geral de Saúde, 2016)



**Figura 1** - Tumores mais frequentes no sexo feminino em 2010. Adaptado do Registo Oncológico Nacional, (2010)

O cancro de mama é o segundo mais comum em todo mundo e, infelizmente, o mais comum entre os cancros que afetam o género feminino. A última publicação da IARC (International Agency for Researcher Cancer), citada organização mundial de saúde, constata que de todos os cancros diagnosticados em 2012, cerca de 1,67 milhões foram novos casos de cancro de mama, cerca de 25% do total de cancros diagnosticados em todo mundo. Segundo a última edição do registo oncológico nacional, publicada em

2010, observa-se e em Portugal o cancro de mama representa cerca de 31,1% dos tumores que afetam o sexo feminino (Figura 1). (International Agency for Researcher Cancer, 2012)

O cancro da mama nem sempre surge de forma esporádica, também pode ser de origem hereditária. A forma esporádica pode dever-se a mutações de origem pontual, sem componente hereditária, adquiridas ao longo da vida, onde a história oncológica familiar não é relevante. O cancro de mama hereditário, como o próprio nome indica, é herdado, ou seja, a mutação que está na origem da cancerização é proveniente de um dos progenitores. Por norma, este gene mutado é herdado com um padrão mendeliano, ou seja, é passado à descendência pelo progenitor de forma autossómica dominante. (Lynch, Snyder & Lynch, 2012)

Atualmente cerca de 5 a 10 % de todos os cancros de mama são hereditários. (Fernandes, Michelli, Scapulatempo-Neto & Palmero, 2016)

As mutações responsáveis pela cancerização da mama, na sua grande maioria ocorrem nos genes BRCA1 e BRCA2. Embora os genes BRCA sejam os mais relevantes no caso dos cancros de mama hereditário, existem muitos mais genes envolvidos, que ao estarem mutados, e, por sua vez, transmitidos de geração em geração, têm peso na componente hereditária do processo cancerígeno. (Rudolph, Chang-Claude & Schmidt, 2016)

Existem estudos sugestivos de que as síndromes hereditários, como Li-Fraumeni e síndromes Cowden, associados a mutações nos genes TP53 e PTEN, respetivamente, têm um papel na componente hereditária de alguns cancros de mama hereditário. (Groep, Wall & Diest, 2011)

Embora se consiga separar os casos de cancro de mama hereditário dos de cancro de mama esporádico, a sua génese não é clara. Podemos atribuir que de todos os casos de cancro de mama, 15% a 20% são familiares, isto é, os indivíduos afetados possuírem familiares em primeiro e/ou segundo grau igualmente afetados pelo mesmo cancro. Esta ligação familiar pode não ser integralmente sugestiva de mutações herdadas, embora se possa atribuir responsabilidade aos genes transmitidos entre os indivíduos da mesma família, por outro lado podem ser atribuídas aos mesmos fatores de risco, por exemplo, fatores ambientais, a que estão sujeitos os indivíduos da mesma família. (Berliner, Fay, Cummings, Burnett & Tillmanns, 2013)

Nos dias de hoje, com o desenvolvimento da genética, já nos é permitido oferecer uma oportunidade de prevenção/tratamento mais precoce do que anteriormente.

Já existem vários testes genéticos de diagnóstico, com recurso a marcadores genéticos capazes de detetar específicas mutações nos genes relevantes para o caso, permitindo anteceder a predisposição para o desenvolvimento de cancro de mama hereditário. (Rudolph *et al.*, 2016)

Esta revisão pretende abordar os marcadores genéticos mais importantes para o estudo do cancro de mama hereditário, também considerados marcadores tumorais. (Hirata *et al.*, 2014)

Os genes de predisposição genética para o cancro de mama, como os BRCA, o TP53, são evidentemente os mais importantes, na medida em que a presença alterada dos mesmos determina ou não a hereditariedade do cancro. No entanto, os marcadores genéticos vão para além dos genes, podemos considerar marcadores genéticos de componente molecular, como é o caso dos recetores hormonais e o recetor do fator de crescimento epidérmico humano 2 (HER2), que auxiliam na classificação dos subtipos de cancro de mama e na avaliação do prognóstico clínico do indivíduo. Contudo os marcadores genéticos ainda podem ser de componente bioquímica, o uso dos antígenos como o Ki-67, carcino-embrionário (CEA) e CA 15-3, podem ser importantes preditores do estado clínico do doente. (Hirata *et al.*, 2014)

Pretende-se com esta monografia caracterizar os marcadores genéticos com maior relevância no cancro de mama hereditário, e por conseguinte descrever as suas expressões em indivíduos com cancro de mama hereditário.

A metodologia adotada neste trabalho assenta numa pesquisa bibliográfica de artigos disponíveis entre 1998 e 2016 nas fontes *on-line PubMed* e *SciELO* e em artigos encontrados em sites de grandes organizações mundiais, como o National Cancer Institute, National Comprehensive Cancer Network (NCCN), World Health Organization (WHO), entre outras. As palavras-chaves utilizadas foram “Hereditary Breast Cancer”, “Tumor Markers”, “Genetic Markers”, “Risk factors”, “Genetic predisposition genes”.

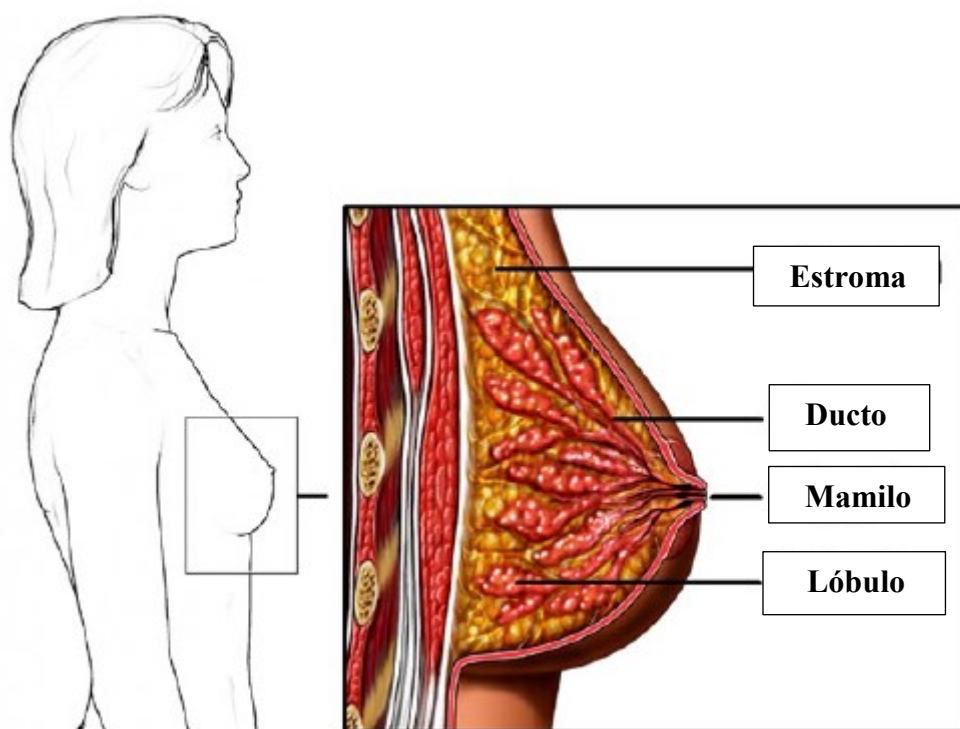




## 2. Cancro de mama

### 2.1. Anatomia e fisionomia da mama

*“Dentro dos seios das mulheres existem milhões de lóbulos que formam o leite materno depois de um bebé nascer. O leite é drenado dos lóbulos até aos ductos, que transportam o leite até ao mamilo. Em torno dos lóbulos e dos ductos o tecido mole envolvente é denominado estroma.”* (National Comprehensive Cancer Network, 2016a)



**Figura 2** – Anatomia mama. Adaptado de National Comprehensive Cancer Network, (2016a).

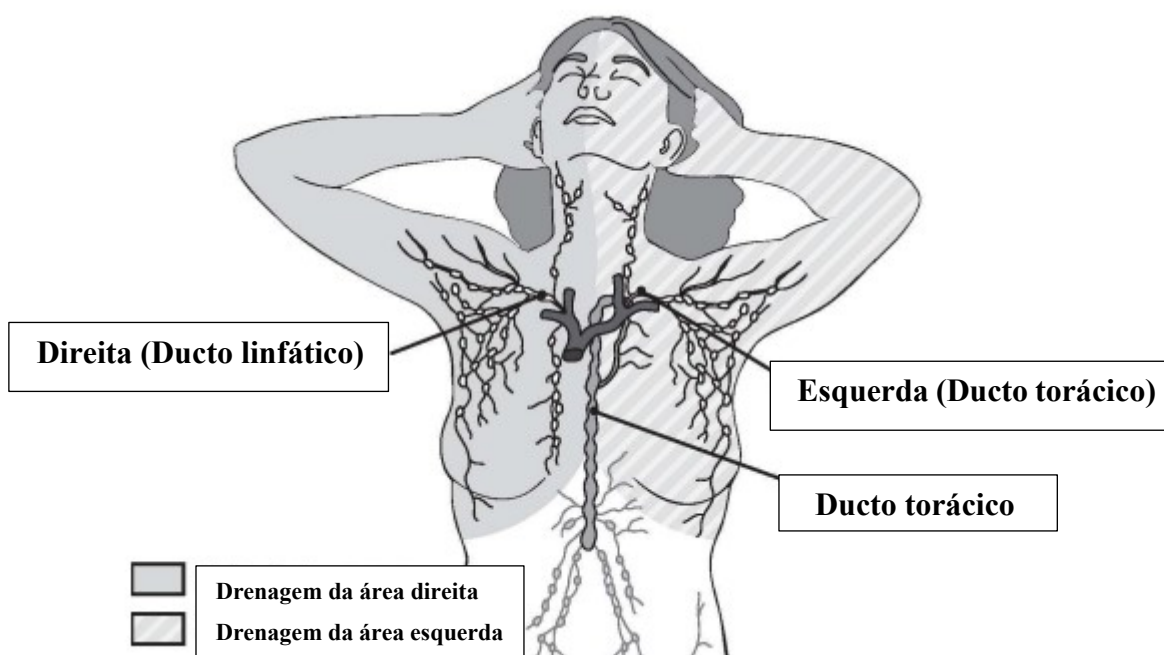
As mamas estão localizadas por cima dos músculos peitorais, que por sua vez cobrem as costelas. (Liga Portuguesa Contra o Cancro, 2009) Cada mama tem na sua constituição exterior uma aréola, um anel de pele mais escura e sensível. No centro da aréola encontra-se uma proeminência castanha denominada mamilo. (NCCN, 2016a)

A mama é constituída por tecido glandular, tecido conjuntivo e tecido adiposo. (Canadian Cancer Society, 2012) Nos lóbulos encontram-se as glândulas responsáveis pela produção do leite materno, os ductos são os canais que transportam o leite dos

lóbulo até ao mamilo, o tecido conjuntivo em conjunto com o tecido adiposo formam o estroma, a estrutura que dá forma à mama, responsável pela sustentação de todos os componentes da mama, como os lóbulos, os ductos e os vasos linfáticos (figura 2). (NCCN, 2016a)

O interior da mama tem a forma de um cacho, dividida entre 15 a 20 seções, os lobos. (LPCC, 2009) Os lobos são constituídos pelos lóbulos, estruturas mais pequenas, que contém no seu interior dezenas de alvéolos, onde estão localizadas as glândulas mamárias produtoras de leite. (Canadian Cancer Society, 2012)

O sistema linfático é responsável pelo transporte da linfa, constituído por vários vasos linfáticos que drenam a linfa pelos vários gânglios linfáticos presentes no nosso corpo. (American Cancer Society, 2015a)



**Figura 3** – Drenagem linfática da mama. Adaptado de American Cancer Society, (2015a).

Nos gânglios linfáticos a linfa é filtrada, o principal objetivo é reter bactérias, células cancerígenas ou outros elementos nocivos ao organismo. (LPCC, 2009)

A drenagem linfática tem um enorme contributo para a diminuição da propagação das células malignas da mama. (Harris, Lippman, Osborne & Morrow, 2010) Existem vários gânglios pelo corpo, mas os localizados nas axilas, acima e abaixo da clavícula e por de trás do esterno são os mais importantes na drenagem linfática da mama (figura 3).

(American Cancer Society, 2015a) Os gânglios linfáticos das axilas são responsáveis por 70% da drenagem linfática da mama. (Ellis & Mahadevan, 2013)

Os gânglios funcionam como um sistema de defesa do nosso organismo, o primeiro gânglio linfático de uma determinada área ganglionar a tornar-se alvo de metástases, ou seja, a receber células malignas, é denominado de gânglio sentinela (GS). No cancro de mama o GS está localizado na zona da axila. A região ganglionar da axila possui cerca de 12 a 20 gânglios linfáticos, e apenas 1 ou, no máximo 2 são considerados sentinelas. O GS é identificado através de técnicas de imunofluorescência. (American Cancer Society, 2015a)

O GS é a primeira barreira de defesa do organismo contra a invasão tumoral, contra as células com capacidade de invasão provenientes do tumor primário instalado na mama. O GS orienta o médico, a sua análise ajuda a demonstrar o estado atual da drenagem linfática da mama e se já existe capacidade de metastização. (NCCN, 2016a)

## **2.2. Fatores de risco**

O surgimento de uma doença nem sempre se deve apenas a sua patogénese, existem outros contributos com elevada importância. Certos fatores de risco devem ser tidos em conta, nomeadamente quando se trata de uma pessoa com predisposição genética para o desenvolvimento da doença em causa. (National Comprehensive Cancer Network, 2016b)

Já existem estudos que comprovam que determinados fatores de risco aumentam a probabilidade de um indivíduo, no futuro, vir a desenvolver cancro. (LPCC, 2009) A instituição National Cancer Institute (NCI) defende esta ideologia, embora, sustente que existam fatores de proteção que podem ajudar a reduzir o risco. (National Cancer Institute, 2015a)

Atualmente estão descritos muitos fatores de risco, que podem ter um papel determinante no risco de desenvolvimento de cancro de mama hereditário. Os de maior relevância são o tabaco, o consumo de álcool, a exposição excessiva à luz solar, tal como a exposição a radiação ionizante, a determinados químicos ou outro tipo de substâncias nocivas para o organismo. O contacto com certos vírus ou bactérias também pode influenciar o risco para o aparecimento de uma neoplasia. Algumas hormonas podem desempenhar um papel pertinente, em especial no cancro de mama. A atividade do

próprio indivíduo também pode influenciar o risco, como por exemplo, o sedentarismo, a obesidade e uma dieta pobre e não equilibrada. (LPCC, 2009; NCCN, 2016b)

Todos os fatores de risco acima descritos são os mais comuns para o aumento do risco de desenvolvimento de cancro de mama, tenha ele componente esporádica ou hereditária. O grande fator de causalidade no cancro de mama hereditário é o fato de um indivíduo possuir nos genes de maior relevância, mutações, com papel fundamental no processo de cancerização. As mutações nos genes de relevância aumentam a probabilidade de desenvolvimento de cancro de mama em 85%. Mas os fatores de risco não genéticos também contribuem com grande peso para que essa probabilidade aumente. (National Cancer Institute, 2015a)

O fator de risco mais importante para desenvolver cancro de mama, hereditário ou não, é o género, o fato de ser mulher aumenta a probabilidade de no futuro desenvolver a neoplasia mamária, isto porque dado a fisiologia feminina, a mulher possui mais células mamárias, o que faz com que a probabilidade de desenvolvimento de cancro de mama seja cem vezes maior na mulher do que no homem. (American Cancer Society, 2015b)

A idade é igualmente um fator de elevada relevância, pois a probabilidade de vir a desenvolver cancro de mama é proporcional à idade. A partir dos 35 anos de idade a mulher vai ficando mais predisposta ao aparecimento da neoplasia mamária. (American Cancer Society, 2015b) Entre os 45 e os 65 anos de idade o risco duplica. (Seker *et al.*, 2014) No caso do cancro de mama hereditário, as mulheres afetadas tem tendência a desenvolver a doença mais cedo, com um padrão de transmissão autossómico dominante. (Boeri, Canzonieri, Cagioni, Ornati & Danesino, 2011; National Comprehensive Cancer Network, 2015)

No cancro de mama hereditário, a história familiar é outro fator muito importante e de extrema relevância, se um indivíduo possuir na família casos de cancro de mama, aumenta a probabilidade de vir a desenvolver a patologia. Sendo que familiares afetados em primeiro grau de parentesco duplica/triplica o risco. (Ellis & Mahadevan, 2013) A história pessoal de cancro de mama é igualmente pertinente, o risco é maior numa mulher que já experimentou processos de cancerização, o fato de uma mulher já ter desenvolvido carcinoma *in situ* torna a probabilidade de vir a desenvolver cancro de mama mais elevada. (Manual MSD, 2009; Boeri *et al.*, 2011)

Segundo a liga portuguesa contra o cancro existe uma maior predisposição para desenvolver cancro de mama quando a mulher é de raça Caucasiana, comparativamente com as mulheres Asiáticas, Latinas ou Afro-Americanas. (LPCC, 2009) As mulheres

afro-americanas apresentam por outro lado uma maior taxa de mortalidade no cancro de mama, isto porque o crescimento dos tumores é mais rápido e o diagnóstico mais tardio. (NCCN, 2015; Papadakis & McPhee, 2015)

Uma mulher com uma elevada quantidade de tecido mamário denso apresenta um maior risco, por possuir mais tecido glandular do que adiposo, que por norma aumenta com a idade. A mama, ao ter mais tecido glandular torna-se uma limitação ao diagnóstico de cancro de mama, porque o tecido mamário é mais denso e a observação em mamografia das alterações são dificultadas e menos precisas, dificultando o propósito das mamografias. (Harris *et al.*, 2010; National Cancer Institute, 2015a)

Se durante a vida, uma mulher, estiver exposta a radiação, aumenta o risco de desenvolvimento de qualquer patologia cancerígena, especialmente se já fez tratamento com radiação para o cancro. O risco é mais elevado se esta exposição à radiação for durante a adolescência, isto porque o desenvolvimento mamário na mulher dá-se por volta desta altura. (Manual MSD, 2009)

As alterações hormonais são um dos fatores que leva ao aumento do risco de desenvolvimento de cancro de mama, principalmente nas mulheres que experimentam mais ciclos menstruais, por exemplo, que têm a primeira menstruação antes dos 12 anos (aumento do risco 2-4 vezes) e/ou que tem a menopausa depois dos 55 anos, porque sofrem mais variações hormonais ao longo da vida. (NCCN, 2015; Papadakis & McPhee, 2015) Estas mulheres que experimentam mais ciclos menstruais, estão mais tempo expostas aos estrogénios. Por norma os níveis de estrogénios aumentam com a puberdade e diminuem com a menopausa e durante a gravidez. O estrogénio está associado a uma maior proliferação celular, principalmente em cancros ginecológicos. (Caldon, Daly, Sutherland & Musgrove, 2006)

A mulher que já foi mãe, antes dos 30 anos de idade, considerada uma idade jovem, vê o risco de desenvolvimento de cancro diminuído, ao contrário das mulheres que têm apenas um filho ou nenhum, e numa idade mais avançada. A amamentação também é importante, quer para a mãe quer para o filho, quanto maior o tempo de amamentação, menor os ciclos menstruais da mulher, e por sua vez, menores alterações hormonais. Um estudo constatou que ter mais filhos e amamentar mais tempo reduz o risco de desenvolvimento de cancro de mama em 50%, portanto, o fato de uma mulher ser mãe e não amamentar, apresenta um risco acrescido para o desenvolvimento de cancro. (Papadakis & McPhee, 2015; NCCN, 2016b; BC Cancer Agency, 2014)

Os aspetos culturais também influenciam o risco, como por exemplo, o estilo de vida, o tipo de alimentação, entre outros. (Kaye, Meier, Walker & Jick, 2002; Papadakis & McPhee, 2015)

Os hábitos alcoólicos e tabágicos, também aumentam o risco, está comprovado que o tabaco não é um hábito saudável para ninguém, mas ainda existe muita controvérsia em relação ao risco específico que poderá causar. Segundo alguns autores como a Bc Cancer Agency e a Organização mundial de saúde, o álcool aumenta a probabilidade desenvolvimento de cancro de mama. (BC Cancer Agency, 2014; Lorgieril & Salen, 2014; World Health Organization, 2016) O álcool interfere com vários mecanismos no organismo humano, começando pelo aumento da produção de estrogénios, alterações ao nível dos metabolismos que ocorrem no fígado e na reparação do DNA. (BC Cancer Agency, 2014)

A maior parte dos cancros de mama é estrogénio-dependente, alguns fatores interferem no aumento desta hormona em particular, levando a uma maior produção da mesma, tal como o álcool e o aumento de peso. (Harris *et al.*, 2010) A obesidade pode ter influência na probabilidade de desenvolver cancro de mama, no caso da mulher, o fato de apresentar um peso excessivo após a menopausa, aumenta os níveis da hormona estrogénio no organismo. A aromatase é uma enzima presente no tecido adiposo, responsável por transformar androgénios em estrogénios, uma vez que se encontra aumentada na obesidade, por consequência aumenta a produção de estrogénios. (BC Cancer Agency, 2014; Lorgieril & Salen, 2014)

Segundo a WHO, um estudo realizado em 2005 comprovou que tal a obesidade como o excesso de peso são alguns dos principais fatores de risco, que contribuem para o aumento da taxa de mortalidade no cancro de mama, principalmente nos países desenvolvidos. Também a liga portuguesa contra o cancro afirma que a falta de exercício físico é nociva para a saúde, contribuindo para o aumento do risco de desenvolvimento de cancro de mama. Sendo assim é importante associar exercício físico a uma dieta equilibrada, pobre em gorduras. (WHO, 2016; Kaye *et al.*, 2002)

A Terapia de substituição hormonal (TSH) foi introduzida com o intuito de diminuir os efeitos indesejados da menopausa, levando a uma reposição das hormonas que o corpo da mulher deixou de conseguir produzir, principalmente o estrogénio e a progesterona. Alguns estudos comprovaram que o uso de TSH por muito tempo pode vir a ter implicações no risco de cancro de mama e na resistência ao mesmo. Dificulta o diagnóstico, por reduzir a eficácia das mamografias. Em mulheres com elevado risco de

desenvolvimento de cancro de mama está contraindicado o uso de TSH. (NCCN, 2015; Harris *et al.*, 2010)

Um estudo realizado pela WHO comprovou que o uso de contraceptivos orais aumenta o risco para o desenvolvimento do cancro de mama, cancro do útero e cancro do fígado. Por outro lado, o uso de contraceptivos orais diminuem a probabilidade de aparecimento do cancro do endométrio e do ovário. É evidente que esta implicação dos contraceptivos é estudada e calculada pela WHO regularmente, em relação ao custo-benefício do uso deste tipo de medicamentos. Ficou comprovado que traz mais benefícios do que riscos para a saúde da mulher, mas não se pode descartar alguma influência negativa das hormonas presentes neste tipo de contraceptivos, no organismo da mulher. (National Cancer Institute, 2015a) Adicionalmente, estuda-se atualmente o risco para o aparecimento do cancro de mama provocado pelo uso de medicamentos indutores de aborto, e também a contribuição do uso de aros nos soutiens, o uso de anti-transpirantes, a realização de cirurgia estética com aplicação de implantes mamários de silicone, no aumento do risco. (Papadakis & McPhee, 2015; American Cancer Society, 2015b)

Hoje em dia o risco de desenvolvimento de cancro é muito elevado, tal como acima explicado, existem muitos fatores externos e internos que levam a um aumento do risco, por este motivo foram criadas medidas de estimativa, que ajudam os profissionais de saúde a identificar potenciais indivíduos com risco elevado, uma dessas medidas é o modelo de Gail, usado no “*Breast Cancer Risk Assessment Tool*” (BCRAT). (National Cancer Institute, 2011)

O BCRAT é uma ferramenta informática que permite estimar o risco de desenvolvimento de cancro da mama invasivo numa mulher, tendo em conta alguns parâmetros, fornece um resultado que possibilita à mulher saber se tem probabilidade de desenvolver cancro no período de 5 anos e/ou até aos 90 anos de idade. (National Cancer Institute, 2015a; National Cancer Institute, 2011)

A tabela 1 indica em que parâmetros o BCRAT se baseia para efetuar esta estimativa, por exemplo, tem em conta a idade da mulher e outras informações essenciais consideradas fatores de risco, como a idade do início da menstruação, a idade do primeiro parto, o número de parentes de primeiro grau (mãe, irmãs, filhas) que têm/tiveram cancro de mama, o número de biópsias de mama anteriores (positivas ou negativas) e pelo menos uma biópsia de mama com hiperplasia atípica. Para além dos parâmetros mencionados, existem outros dados pertinentes, que não entram para o cálculo do risco de cancro de mama no BCRAT, como: a idade da menopausa, o tecido mamário denso evidenciado

numa mamografia, o uso de pílulas anticoncepcionais e terapia hormonal de substituição, uma dieta rica em gordura, o consumo de álcool, o pouco exercício físico, a obesidade, entre outros, isto porque a evidência não é conclusiva, dado que a interferência dos mesmos no cálculo do risco ainda não é clara. (National Cancer Institute, 2011)

O cálculo do risco através do BRCAT é efetuado informaticamente, após o preenchimento de todas as alíneas, está disponível no seguinte endereço: <https://www.cancer.gov/bcrisktool/>.

O cancro da mama pode também ser causada por mutações genéticas hereditárias, dado esse não tido em conta nas estimativas de risco com o BCRAT, por este motivo, mulheres com uma forte história familiar, devem usar outros métodos mais específicos e conclusivos para estimar o risco de desenvolvimento de cancro de mama, como testes genéticos. (American Cancer Society, 2015b; National Cancer Institute, 2011)



<b>Cálculo do Risco</b>	
<b>1.</b> A mulher tem história médica de cancro de mama? Ou de Carcinoma ductal in situ (DCIS) ou Carcinoma lobular in situ (LCIS) ou recebeu previamente terapia radioativa na mama para tratamento do Linfoma de Hodgkin?	<b>Resposta:</b> Sim/Não
<b>2.</b> A mulher tem mutação em algum dos genes BRCA? Ou foi-lhe diagnosticado uma síndrome genético que pode ser associado a um elevado risco de desenvolvimento de cancro de mama?	<b>Resposta:</b> Sim/Não
<b>3.</b> Qual é a idade da mulher?	<b>Resposta:</b> <35 ou 35 ou +35
<b>4.</b> Qual era a idade da mulher quando teve a primeira menstruação?	<b>Resposta:</b> Idade
<b>5.</b> Qual era a idade da mulher quando foi mãe pela primeira vez?	<b>Resposta:</b> Se aplicável
<b>6.</b> Quantas mulheres em relação de primeiro grau com a inquirida (mãe, irmãs, filhas) tiveram cancro de mama?	<b>Resposta:</b> Se aplicável
<b>7.</b> A mulher já realizou alguma biopsia à mama?	<b>Resposta:</b> Sim/Não
<b>7.a.</b> Quantas biopsias a mulher já realizou? (Positivas ou Negativas)	<b>Resposta:</b> Se aplicável
<b>7.b.</b> A mulher já teve pelo menos uma biopsia com hiperplasia atípica?	<b>Resposta:</b> Sim/Não
<b>8.</b> Qual é a raça/etnia da mulher?	<b>Resposta:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Caucasiana</li> <li>• Afro-Americana</li> <li>• Asiática-Americana</li> <li>• Hispânica</li> <li>• Índia Americana</li> <li>• Nativa do Alasca</li> <li>• Desconhecida</li> </ul>
<b>8.a.</b> Qual é a sub-raça/etnia da mulher?	<b>Resposta:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Chinesa</li> <li>• Japonesa</li> <li>• Filipina</li> <li>• Havaiana</li> <li>• Outra ilha do pacífico</li> <li>• Outro tipo de Asiática-Americana</li> </ul>

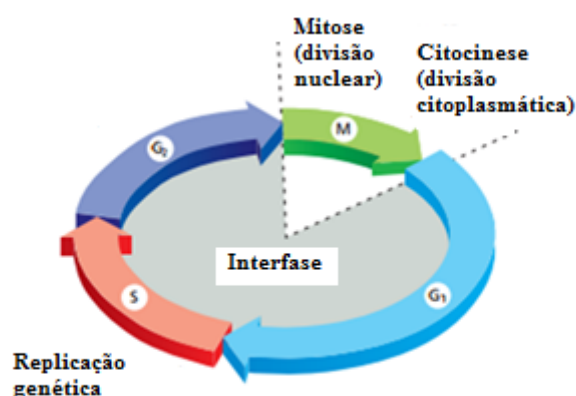
**Tabela 1** - BCRAT (Imagem original no anexo 1). Adaptado de National Cancer Institute, (2011)

### 2.3. Ciclo Celular no cancro de mama

A célula é a unidade base da vida, é um sistema único, capaz de manter a sua estrutura e de se reproduzir. (Alberts *et al.*, 2010)

A reprodução por vezes também falha, e as células ditas “normais” tornam-se tumorais. Para conseguirmos entender a base genética que leva ao aparecimento de células tumorais, temos de primeiro perceber qual a sua base normal de funcionamento. (Cell Biology and Cancer, 2013)

Cada célula rege-se por um ciclo celular, onde existe divisão celular, replicação do ADN, que posteriormente originará duas células filhas, provenientes da célula que se dividiu (célula-mãe). Este ciclo está compreendido em duas fases distintas, são elas a fase M e a interfase. Durante a primeira fase (Interfase) ocorre a replicação do ADN no núcleo, o núcleo da célula prepara-se para originar dois, com o objetivo de fornecer informação genética às duas células que se vão formar, então os cromossomas começam a descondensar e a distribuir-se por todo o núcleo. Nesta fase ocorre então o crescimento celular e a replicação genética. A Interfase está dividida em três grandes etapas, são elas a fase G<sub>1</sub>, onde a célula atinge o seu máximo, onde o crescimento é contínuo sem divisão celular, seguido do crescimento vem a segunda etapa, a fase S, durante a qual ocorre a replicação do material genético e por fim a última etapa da Interfase, a fase G<sub>2</sub> durante a qual a célula se prepara para a segunda fase do ciclo celular, a Fase M (Figura 4). (Cooper & Hausman, 2013)



**Figura 4** - Ciclo celular, dividido em duas grandes fases: Interfase e Mitose. Adaptado de Alberts *et al.*, (2010).

A fase M é constituída por duas etapas, a mitose e a citocinese. Durante esta fase ocorre então a parte mais importante do ciclo celular, a divisão genética, para que nas duas células subjacentes a informação genética seja igual, com o mesmo número de cromossomas, vinte e três pares em cada núcleo. (Pines, 2006)

A mitose é compreendida em quatro fases, são elas a Prófase, a metáfase, a anafase e a telófase (Figura 5). (Srivastava, Banerjee, Ganguly, Yadav, & Chauhan, 2006)



**Figura 5** - Fases da mitose. Adaptado de Srivastava *et al.*, (2006).

Como podemos observar na figura 5, a Prófase é a primeira fase da mitose, onde o material genético compacta e se forma o fuso acromático, posteriormente responsável pela segregação dos cromossomas homólogos. Na segunda fase da mitose, metáfase, os cromossomas homólogos estão ligados ao fuso acromático, por intermédio dos centrómeros, estando dispostos no plano equatorial da célula. Na terceira fase, anafase,

os cromossomas homólogos começam a separar-se pelos centrómeros que os unem, e começam a migração até aos polos opostos da célula, sendo arrastados pelo fuso acromático. Na última fase da mitose, a telófase, os cromossomas descondensam e começa-se então a preparação para a formação de novos núcleos, cada um com vinte e três pares de cromossomas. (Cell Biology and Cancer, 2013; Cooper & Hausman, 2013)

Ao terminar toda a divisão nuclear e a formação completa de dois núcleos distintos, a célula está pronta para se dividir em duas, e originar duas células-filhas, cada uma com o seu núcleo. Posto isto, dá-se início à última fase do ciclo celular e última etapa da fase M, a citocinese, onde ocorre a divisão celular. (Alberts *et al.*, 2002)

## **2.4. Regulação do ciclo celular no cancro de mama**

A célula nem sempre avança com o seu ciclo celular, tudo depende do controlo e regulação do mesmo, onde existem moduladores que têm como função corrigir eventuais erros que ocorram durante o ciclo. Se os erros, eventualmente, não tiverem solução, então, a célula pode induzir a morte celular (apoptose). (Ahmad *et al.*, 2012)

As moléculas reguladoras do ciclo celular são responsáveis por realizar uma regulação positiva ou negativa, isto é, promover o progresso da célula para a fase seguinte ou interromper o ciclo. Existem então dois grupos de proteínas que regulam o ciclo celular, as ciclinas e quinases dependentes de ciclinas (CDKs), que são responsáveis pelo avanço do ciclo celular, através dos vários pontos de controlo. Na regulação negativa, onde há interrupção do ciclo, temos os genes RB (retinoblastoma), p53 e p21. (Saeed, Jalal & Ashraf, 2012)

A regulação do ciclo celular acontece mais precisamente em três momentos ao longo do ciclo, nos checkpoints, onde a progressão da célula para a próxima fase do ciclo celular pode ser interrompida. Estes checkpoints ocorrem perto do final da etapa G1 da Interfase do ciclo celular, durante a transição da etapa G2 da Interfase para a fase M do ciclo celular e durante a etapa Metáfase da fase M do ciclo celular. (Biology, 2016)

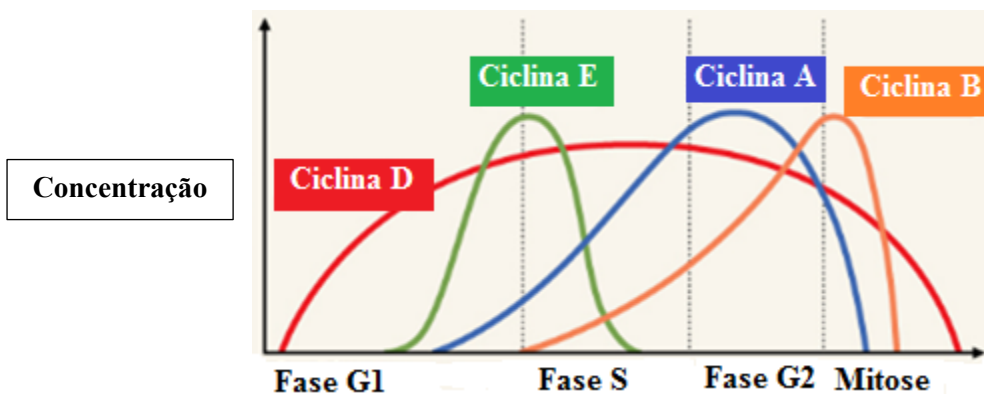
O “checkpoint” G1 é onde a célula avalia se todas as condições estão favoráveis para a progressão para a fase seguinte, onde a célula se prepara para a divisão celular. (Alberts *et al.*, 2010)

No segundo “checkpoint”, G2/M, existe na mesma a verificação de toda a condição da célula, para que seja possível a passagem à fase seguinte, fase M. Neste “checkpoint” são verificados o tamanho da célula, as reservas proteicas, mas sobretudo

existe uma verificação minuciosa do material genético, onde se assegura que a replicação do ADN está bem executada, se o número de cromossomas está correto, e principalmente se o material replicado não está danificado. O objetivo é corrigir anomalias no ADN e se estas existirem, interromper o ciclo para o reparar, ou se não o for possível, evitar a progressão da célula para a próxima fase e induzir a morte celular. (Cell Biology and Cancer, 2013; Cooper & Hausman, 2013)

No último “checkpoint”, que ocorre perto do final da fase da metáfase, na última etapa da fase M do ciclo celular, ocorre a principal verificação: ligação das cromátides irmãs ao fuso acromático está correta, dado que se houver uma deficiente distribuição dos mesmos pelos dois núcleos das células filhas, o material genético irá ficar danificado. (Biology, 2016)

As ciclinas são as proteínas mais importantes na regulação do ciclo celular, o seu nome deve-se ao fato de estarem em constante “ciclo”, são constantemente sintetizadas e degradadas ao longo do ciclo celular, à medida que o ciclo avança a ciclina anterior é destruída e uma nova, responsável por interferir naquela fase específica do ciclo celular, é formada. Existem quatro tipos de ciclinas, dependendo da fase do ciclo celular em que atuam. (Ahmad *et al.*, 2012)



**Figura 6** - Fases do ciclo celular em que as ciclinas atuam. Adaptado de Biology, (2016).

A concentração das ciclinas ao longo do ciclo celular muda, como mostra na figura 6. Os picos da concentração das ciclinas atingem o auge durante os “checkpoints”, porque é nestes pontos de verificação que elas exercem a sua função, durante as transições das fases. Após a passagem da célula de uma fase para a outra verifica-se uma descida

acentuada da ciclina correspondente, devido à inatividade a partir daquele momento, então, procede-se à degradação da mesma. (Saeed *et al.*, 2012)

A progressão do ciclo celular depende da ligação das ciclinas às CDK. Tal como o nome indica, as quinases dependentes de ciclinas (CDK) só conseguem ser ativas, isto é, com capacidade de fosforilar e ativar outras proteínas, responsáveis por promover a progressão do ciclo celular num determinado “checkpoint”, se formarem o complexo ciclina-CDK fosforilado. (Ahmad *et al.*, 2012)

O complexo ciclina-CDK não é formado em qualquer altura, mas sim antes das transições de fases, correspondentes aos “checkpoints”, isto, porque a concentração das ciclinas é maior nos “checkpoints”, ao contrário das quinases que são estáveis ao longo do ciclo celular. (Alberts *et al.*, 2010)

No momento em que a célula se prepara para se dividir, dá-se início ao avanço do ciclo celular, onde têm de haver moduladores positivos, como já referidos anteriormente, as ciclinas e as CDKs. No final do ciclo, posterior à divisão celular, as ciclinas já não são necessárias, e por esse motivo são degradadas, tornando as CDK inativas e consequente dá-se a finalização do ciclo celular. (Lodish *et al.*, 2012) Tal como existem estes complexos, que se formam para dar progressão ao ciclo celular, também existem moduladores negativos, como as moléculas p21 e p27, que interagem com os complexos ciclina-CDK, inativando-os, fazendo com que não haja progressão do ciclo celular. (Ahmad *et al.*, 2012)

Em última instância, se a célula que está a ser formada, não estiver dentro da normalidade, principalmente quando se deteta material genético incorreto dá-se início a processos de reparação de ADN, que são responsáveis por detetar as anomalias e também repará-las. Caso exista alguma anormalidade no material genético que seja impossível de solucionar com a ajuda dos mecanismos reparadores do ADN, o gene p53 entra em ação, responsável pela regulação do processo de autodestruição da célula. (Civetta & Civetta, 2011)

Os cancros no ser humano surgem por vários motivos, os mais evidentes são o desequilíbrio do crescimento celular e da morte celular, por existirem alterações ao nível dos moduladores do ciclo celular. Já se verificou que em diversos casos de cancro de mama, existe uma correlação positiva entre o aumento da proliferação celular e a alteração das atividades das ciclinas, das CDK, e dos inibidores das CDK (p21 e p27). (Fernández, Jares, Rey, Campo & Cardesa, 1998) A perda de expressão ou função de dois

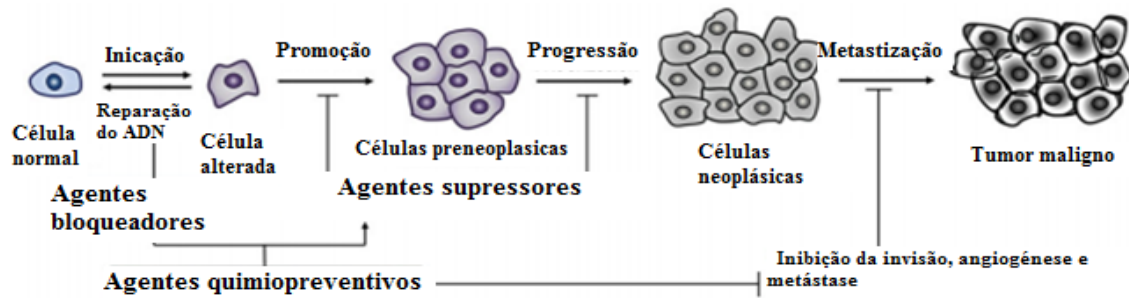
inibidores de CDK, p21 e p27 têm sido implicada na génese ou progressão de muitas doenças malignas humanas. (Abukhdeir & Park, 2008)

O gene RB (Retinoblastoma) codifica uma proteína importante, o pRb, produto do gene retinoblastoma, modulador negativo no controlo do ciclo celular. O RB foi o primeiro gene supressor de tumor a ser descoberto, é um regulador da transcrição nuclear e do ciclo celular. (Giacinti & Giordano, 2006) A proteína pRb reprime a transcrição genética necessária que permite a transição da fase G1 para a fase S do ciclo celular, assim, a perda de função o pRb pode induzir a perda de regulação do ciclo celular, possibilitando uma evolução do estado anormal da célula. Na maior parte dos tumores observa-se alterações ao nível do retinoblastoma, que normalmente tem como função prevenir o excessivo crescimento das células por inibição da progressão do ciclo celular, funcionando como um supressor tumoral. Após verificar que tudo está conforme, a pRB é fosforilada, tornando-se inativa e permitindo a progressão do ciclo. (Fernández *et al.*, 1998)

A pRB está reduzida no cancro de mama, assim a sua diminuição está relacionada com o aumento da proliferação das células tumorais. (Fernández *et al.*, 1998) Pensa-se que a inativação da função da pRb seja também devido à sobreexpressão das ciclinas no cancro. Tal como o gene RB, as ciclinas também podem sofrer alterações durante o cancro. Estas proteínas, por norma têm a sua expressão aumentada em casos de cancro de mama. (Caldon *et al.*, 2006)

## 2.5. Carcinogénese ou Cancerigénese

O processo carcinogénico é constituído por três fases distintas, a iniciação, a promoção e a progressão do cancro. É considerado um processo multisetp (Figura 7). A carcinogénese é o processo no qual as células normais se transformam em cancerígenas, o início do cancro. Pode demorar anos até que a transformação de uma única célula maligna progrida até um tumor visível. (Civetta & Civetta, 2011)



**Figura 7** - Processo carcinogénico. Adaptado de Siddiqui, Sanna, Ahmad, Sechi & Mukhtar, (2015)

A fase inicial do processo carcinogénico começa com uma transformação irreversível na estrutura genómica de uma determinada célula, mediada pelos agentes carcinogénicos (físicos, químicos ou biológicos), ou no caso do cancro de mama hereditário, uma mutação herdada, maioritariamente em genes supressores de tumor. Estas alterações levam a uma perda de funções nos mecanismos de reparação do ADN. Nesta primeira etapa do processo é impossível detetar o início do tumor. (Kufe, Pollock & Weichselbaum, 2003; Mechanisms of Carcinogenesis 3, 2008)

O processo de transformação celular inicial pode causar diversas alterações, entre elas a ativação de um ou mais proto-oncogenes, inativação dos genes responsáveis pela reparação do ADN e dos genes supressores de tumor, como os genes BRCA e o gene TP53, bem como alterações nos genes que regulam a apoptose celular. (Mechanisms of Carcinogenesis 3, 2008)

A segunda fase do processo carcinogénico é a promoção do cancro, onde existe crescimento celular e proliferação celular. As células mutadas, transformadas em malignas, vão progredindo de maneira lenta e gradual, mas para que isto acontece é necessário um estímulo contínuo dos agentes carcinogénicos. (Abel, Angel, Kiguchi & DiGiovanni, 2009)

A fase de progressão é a última, onde as células malignas se multiplicam descontroladamente e irreversivelmente, até às primeiras manifestações clínicas da doença. A progressão representa a etapa em que as células malignas apresentam maior heterogeneidade, desenvolvem maior agressividade, demonstram um crescimento rápido



e começam a ter um potencial de invasão e disseminação, levando a formação de metástases. (Kufe *et al.*, 2003)

O processo metastático depende do “homing” e da angiogénese. O “homing” das células tumorais está dividido em fases: a separação das células malignas do tumor primário, a invasão da matriz extracelular circundante, migração através do endotélio até atingir a corrente sanguínea. O processo de disseminação das células malignas pode ocorrer, no entanto a colonização depende destes dois grandes fatores. O “homing” termina com a fixação e colonização de um órgão alvo, que depende da angiogénese para subsistir. (Mechanisms of Carcinogenesis 3, 2008; Civetta & Civetta, 2011)



### 3. Cancro de mama hereditário

#### 3.1. Cancro de mama esporádico versus cancro de mama hereditário

O cancro é um conjunto de células anormais, que apresentam um crescimento acentuado, descontrolado, indefinido e têm material genético alterado. As células tumorais não são controladas nem reguladas como as células ditas “normais”, uma vez que os mecanismos de regulação do ciclo celular também se encontram alterados, nomeadamente no processo de apoptose, ao qual as células cancerígenas conseguem escapar. (BC Cancer Agency, 2014; NCCN, 2016b)

As células neoplásicas desenvolvem o seu próprio programa de replicação, que lhes permite escapar aos mecanismos de controlo. São células “imortais” por conseguirem escapar ao processo de apoptose, como tal, disseminam-se pelo organismo muito facilmente, não se restringindo muitas vezes à formação de apenas um tumor, podendo originar metástases. (Rabaça, 2007)

O cancro de mama esporádico é igual ao cancro de mama hereditário, na medida em que a causa está relacionada com alterações genéticas, embora o comportamento adicional de natureza cultural e pessoal possa tornar o risco de desenvolvimento de cancro de mama mais elevado. (BC Cancer Agency, 2014)

A grande diferença entre um indivíduo com cancro hereditário e um indivíduo com cancro de mama esporádico é que, no primeiro, herda-se estas alterações genéticas dos progenitores, ou seja, no seu organismo e em todas as suas células, estão presentes as mutações germinativas (herdadas) para aquele determinado gene. (Osborne, Wilson & Tripathy, 2004)

Não se verifica herança genética alterada no cancro de mama esporádico (90% a 95% dos casos de cancro de mama). As mutações genéticas para aquele determinado gene, no caso de ser um cancro esporádico, ocorrem de uma causa espontânea, aparecendo, única e exclusivamente nas células alteradas, ou seja, nas células tumorais, enquanto as restantes células do organismo possuem um material genético livre de alterações. A estas alterações de ocorrência espontânea dá-se o nome de mutações somáticas. (Lacroix & Leclercq, 2005)

As mutações em genes de suscetibilidade tumoral aumentam o risco de desenvolvimento de cancro de mama, isto porque na sua grande maioria são genes que estão relacionados com a reparação do ADN. Se um indivíduo possuir mutações

germinativas, existe uma acrescida predisposição para o desenvolvimento de mutações somáticas, envolvendo outros genes de elevada relevância, que tornam o risco de desenvolvimento de cancro de mama mais elevado. Na maior parte dos casos, os indivíduos com mutações herdadas dos progenitores, que afetam genes de alta relevância, podem adquirir no futuro mutações somáticas noutros genes de relevância, tornando o processo carcinogénico altamente provável. (Saghir *et al.*, 2015) No processo carcinogénico é de extrema importância os genes que influenciam todo este processo, genes de suscetibilidade tumoral, tais como, os oncogenes e os genes supressores de tumor. (Osborne *et al.*, 2004)

Está comprovado que a incidência de cancro em indivíduos que possuem no seu material genético, mutações germinativas, é maior e mais precoce. É importante que os rastreios de diagnóstico de cancro de mama sejam mais cedo, de forma a prevenir e a diagnosticar o mais precoce possível. Se o tratamento for administrado no início de um tumor, este é mais suscetível aos fármacos, e a hipótese de cura é mais provável. (National Cancer Institute, 2013)

A maioria dos cancros de mama, cerca de 80% é de componente esporádica, em que as mutações nos genes são adquiridas ao longo da vida. No cancro de mama esporádico o aparecimento dá-se entre os 65 anos e os 80 anos de idade. (Lacroix & Leclercq, 2005)

Nos cancros de mama familiares os indivíduos são mais afetados pelo cancro de mama do que o esperado, a idade de aparecimento de cancro ronda os 55 e os 70 anos de idade, onde há a possibilidade de existir genes herdados de predisposição genética ou não, contribuindo para o cancro de mama familiar outros fatores externos. (Rabaça, 2007; Lacroix & Leclercq, 2005)

Aproximadamente, 5 a 10% dos cancros de mama são hereditários, onde os indivíduos mais afetados pertencem a uma faixa etária jovem, antes dos 50 anos. Trata-se de um padrão de herança autossómico dominante no qual os sujeitos afetados, em cada geração, são do mesmo lado da família. (Marchina *et al.*, 2010)

### **3.2. Tipos de cancro de mama hereditário**

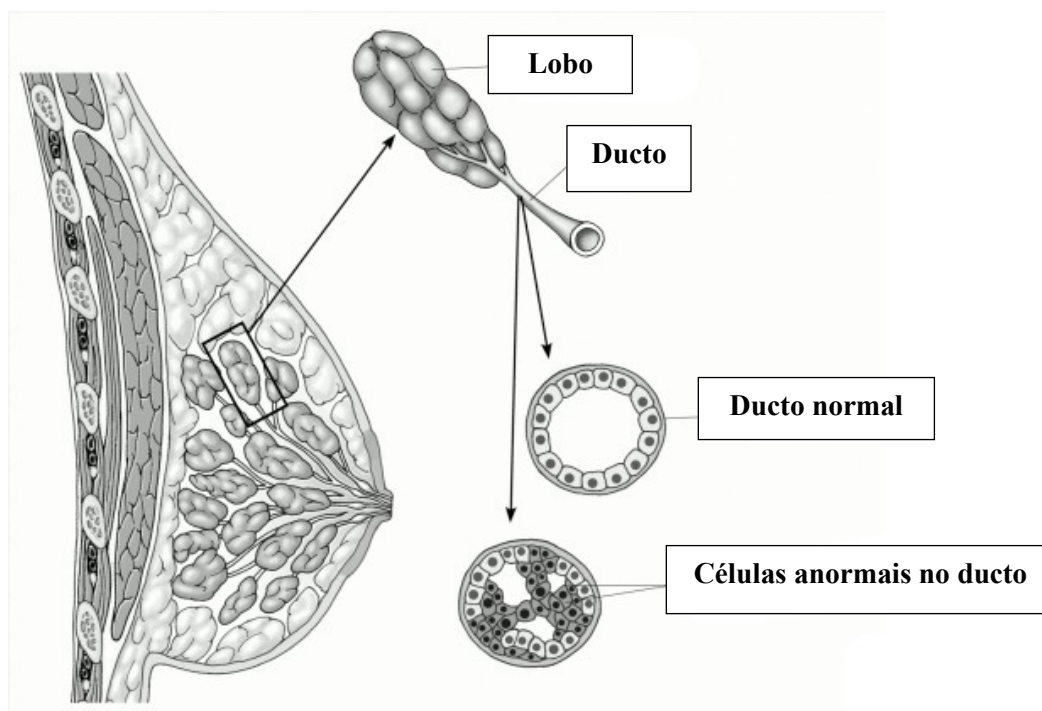
Atualmente o cancro de mama pode ser classificado de acordo com o tamanho do tumor, o envolvimento do sistema linfático e presença de metástases. No entanto com o avanço da tecnologia já é possível a utilização de alguns marcadores moleculares

como os recetores hormonais, o recetor do fator de crescimento epidérmico HER2, para ajudar a classificar a doença a nível molecular. (American Cancer Society, 2016a)

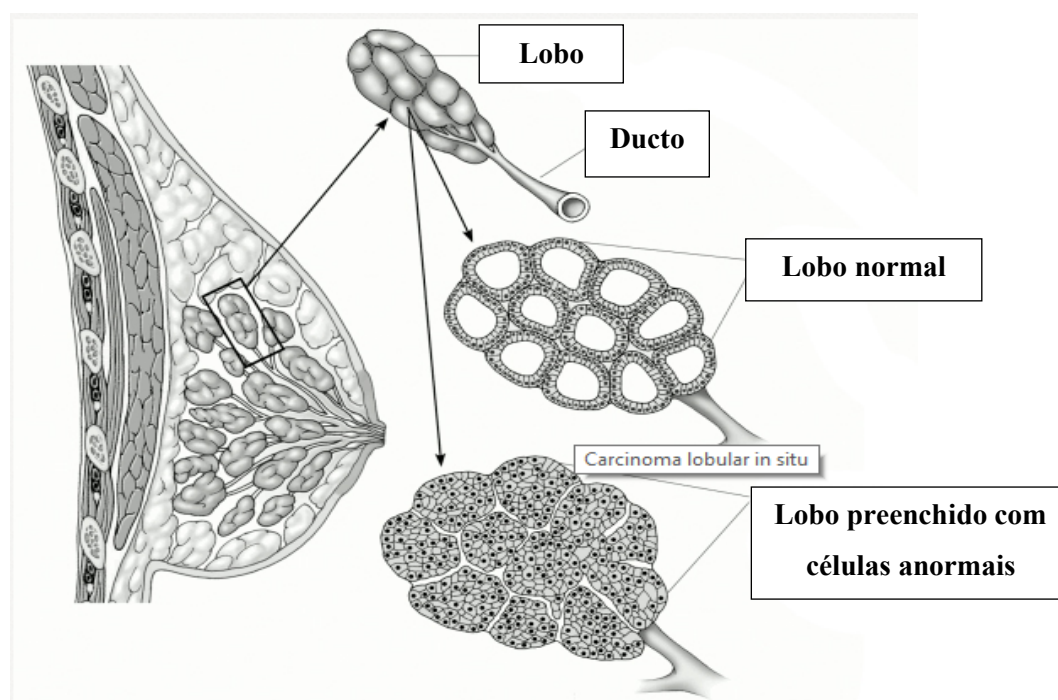
A maioria dos cancros de mama são carcinomas, embora, possam surgir casos de sarcoma. (American cancer society, 2015b)

O Carcinoma origina-se em células epiteliais, as células que envolvem os órgãos e os tecidos. A maior parte dos cancros de mama são considerados adenocarcinomas, por se instalarem preferencialmente, em primeiro lugar, no tecido glandular. O sarcoma é um tipo de cancro, que por norma, começa a cancerização em células não epiteliais, como as células musculares, as células adiposas ou as células do tecido conjuntivo. (Breastcancer.org., 2016a)

Histologicamente podemos classificar os cancros de mama em três tipos: carcinoma ductal, carcinoma lobular e doença de Paget. O indivíduo pode desenvolver um carcinoma *in situ*, caracterizado por neoplasias malignas do epitélio de revestimento, que ainda não invadiram o estroma adjacente, onde o crescimento é restrito à área de origem (figura 8 e 9). (American Cancer Society, 2016a)



**Figura 8** - Carcinoma ductal *in situ*. Adaptado de American Cancer Society, (2016a).



**Figura 9** - Carcinoma lobular *in situ*. Adaptado de American Cancer Society, (2016a).

No carcinoma lobular *in situ* as células afetadas crescem nos lobos das glândulas produtoras de leite, mas não se desenvolvem através da parede dos lobos. No carcinoma ductal *in situ* as células afetadas são as que revestem os ductos. (American Cancer Society, 2016a)

O carcinoma ductal invasivo (IDC) é o mais comum entre os cânceros de mama, inicia-se nos ductos mamários e posteriormente alastra para o tecido adiposo da mama, tendo a capacidade de invasão através da circulação sanguínea ou pelo sistema linfático, permitindo a colonização de outros órgãos, originando metástases. Um carcinoma ductal *in situ* pode evoluir para carcinoma ductal invasivo. (Breastcancer.org., 2016a)

O carcinoma lobular invasivo (ILC) é menos frequente que o IDC, inicia-se nos lóbulos e posteriormente dissemina-se pelo restante tecido mamário. (Cancer Research UK, 2015)

A doença de Paget é um tipo de cancro de mama que começa nos ductos mamários e se prolonga-se até ao mamilo, representa cerca de 1% de todos os casos de cancro de mama. Também o cancro de mama inflamatório (IBC) representa uma percentagem mínima de todos os casos de cancro de mama, é um dos mais raros, no entanto, ainda existem outros tipos cancro de mama raros, como o angiossarcoma e o cancro de mama masculino. (National Breast Cancer Foundation, INC., 2015)

Distinguiu-se seis subtipos de cancro de mama a nível molecular, o “Luminal A”, “Luminal B”, “Her2 positivo”, “Basal-like” (TNBC), “Normal breast-like” e mais recentemente o “Claudin-low”. (Eroles, Bosch, Pérez-Fidalgo & Lluch, 2012)

O “Luminal A” e “Luminal B” são recetor de estrogénio (ER) positivo. O cancro de mama “Luminal A” é o subtipo molecular mais frequente, representando cerca de 50 a 60% dos casos. Este subtipo apresenta melhor prognóstico do que os outros subtipos de cancro. É caracterizado por ser HER2 – e por apresentar valores baixos de Ki-67. É caracterizado pelos genes que normalmente são ativados pelo fator de transcrição dos recetores de estrogénio, terem a sua expressão aumentada, levando a uma diminuição, levando a uma diminuição da expressão dos genes responsáveis pela proliferação celular. (American Cancer Society, 2016b; Guiu *et al.*, 2012)

O “Luminal B” é menos frequente que o “Luminal A”, representando apenas 10 a 20% dos casos de cancro de mama. É geralmente o subtipo mais agressivo do cancro de mama, em que a proliferação é mais avançada. (Creighton, 2012)

O “Luminal B” pode ser classificado em dois subtipos, pode ser caracterizado por expressar positivamente o recetor de estrogénio e negativamente o HER2, no entanto pode expressar positivamente ambos os marcadores, ER e HER2. Ao contrário do que acontece com o “Luminal A”, os valores de Ki-67 estão aumentados, originando uma maior proliferação e um pior prognóstico clínico da doença com este subtipo. (Alluri & Newman, 2014)

O subtipo “HER2 positivo” representa cerca de 15 a 20% dos casos totais de cancro de mama, é característico pelo elevado valor de expressão do gene HER2. É um subtipo com uma capacidade proliferativa bastante elevada, em que cerca de 40% dos casos apresenta mutações no gene TP53. (Eroles *et al.*, 2012; American cancer society, 2015b)

O subtipo “HER2 positivo” é caracterizado por apresentar a expressão dos recetores de estrogénio e de progesterona negativas, é um subtipo com mau prognóstico, devido ao elevado valor de expressão de HER2. Apresenta uma enorme capacidade de invasão, evoluindo facilmente para metástases. (erolles et al., 2012; Creighton, 2012; Guiu et al., 2012)

O cancro de mama “Basal-like” é responsável por cerca de 10 a 20% dos casos de cancro de mama. É o subtipo mais comum entre os casos de cancro de mama hereditário, uma vez que tem uma elevada agressividade e um diagnóstico tardio. Este subtipo é conhecido por cancro de mama triplo negativo (TNBC), caracterizado por

ausência de expressão de ambos os recetores hormonais e do HER2. (American Cancer Society, 2016b; Guiu *et al.*, 2012)

Os cancros de mama derivados de mutações nos genes BRCA, especialmente o BRCA-1, são na maioria das vezes classificados como “Basal-like”, sendo o mais comum entre os cancros de mama hereditários. (Alluri & Newman, 2014)

O subtipo “Normal breast-like” é o que suscita mais dúvidas na comunidade científica, apesar de ser semelhante ao TNBC, apresentando ausência da expressão dos recetores hormonais e do HER2, não são classificados como iguais, por falta da citocina 5 (CK5) e recetor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) no “Normal breast-like”. As mulheres com este subtipo de cancro de mama tem tendência a ter um prognóstico razoável, melhor que o prognóstico do subtipo “Basal-like” e pior que os subtipos Luminais. (Eroles *et al.*, 2012)

Recentemente, descobriu-se outro subtipo, o “Claudin-low”. É um subtipo semelhante ao “Basal-like”, por ser caracteristicamente negativo na expressão dos recetores hormonais, progesterona e estrogénio, e HER2. No entanto, apresentam diferenças na atividade das vias de transdução de sinal, que no subtipo “Claudin-low” é maior. (NCCN, 2016a)

O subtipo “Claudin-low” representa cerca de 12 a 14% de todos os casos de cancro de mama, apresenta um mau prognóstico, uma proliferação genética elevada, associada a mutações em genes como o TP53. Caracteristicamente, este subtipo não tem um mau prognóstico associado à elevada proliferação celular, uma vez que a taxa de expressão de genes relacionados com a proliferação celular neste subtipo de cancro de mama é baixa. (American Cancer Society, 2016b; NCCN, 2016a)

Os cancros da mama que surgem devido à componente hereditária, com alterações nos genes BRCA1 e BRCA2 são mais comumente classificados como carcinoma “Basal-like” ou TNBC. (American Cancer Society, 2016b; Guiu *et al.*, 2012)



#### 4. Marcadores genéticos

Um marcador genético é uma sequência de ADN que permite identificar um local ou uma região na sequência de ADN de um cromossoma de um indivíduo. Estes marcadores permitem detetar diferenças entre dois ou mais indivíduos/organismos, ao identificarem sequências genéticas que se pretendem encontrar num determinado gene de um indivíduo ou de uma população. (National Cancer Institute, 2015b)

Os marcadores genéticos do cancro de mama também são denominados de marcadores tumorais. Os marcadores tumorais utilizados no cancro de mama podem ser classificados em vários tipos consoante as técnicas utilizadas. (Väli, Brandström, Johansson, & Ellegren, 2008).

Os marcadores genéticos identificados através de técnicas de biologia molecular, consistem principalmente em mutações nos genes de relevância, genes de predisposição genética, como é o caso dos genes BRCA1 e BRCA2, possibilita identificação de indivíduos ou famílias com suscetibilidade ao cancro de mama hereditário. (Hirata *et al.*, 2014)

Os marcadores genéticos não se resumem apenas à identificação de genes, o uso de marcadores tumorais de componente bioquímica e molecular contribuem para avaliar o prognóstico de um indivíduo com cancro, ao auxiliar no diagnóstico e na avaliação da terapêutica utilizada no cancro de mama. (Breastcancer.org., 2016b)

Os marcadores de origem bioquímica podem ser doseados no plasma do indivíduo, com o objetivo de identificar substâncias produzidas pelo organismo ou pelas células cancerígenas. Existem vários marcadores tumorais de componente bioquímica com interesse no cancro de mama, que são utilizados para avaliar a resposta do organismo aos tratamentos efetuados ou para monitorizar a situação clínica do indivíduo, como por exemplo o antigénio CA 15-3 ou o antigénio Carcino-embrionário (CEA). (Hirata *et al.*, 2014; Breastcancer.org., 2016b)

Os marcadores genéticos de componente molecular são avaliados por técnicas de imunohistoquímica, baseando-se na expressão de certas proteínas que no cancro de mama aparecem elevadas ou diminuídas, diferindo da expressão das mesmas num indivíduo saudável, como é o caso dos recetores hormonais e o recetor do fator epidérmico HER2. (Poznak *et al.*, 2015)

Os marcadores tumorais são indicadores de processos biológicos normais ou patogénicos, traduzindo-se na expressão de proteínas e doseamento de antigénios no

tecido tumoral e identificação de mutações genéticas de relevância para o cancro de mama. Sabe-se que o cancro de mama representa uma doença complexa e com uma grande heterogeneidade, que compreende patologias distintas, características histológicas e uma evolução clínica única. (Väli *et al.*, 2008).

No caso do cancro de mama hereditário, os marcadores genéticos podem ser utilizados, à semelhança dos utilizados no cancro de mama esporádico e permitem a identificação de genes, de mutações genéticas presentes nos genes e a classificação de subtipos de cancro de mama, e ainda para avaliar a resposta terapêutica. (Hirata *et al.*, 2014)

O cancro da mama é um dos cancros mais comuns, com mais de 1.300.000 casos e 450.000 mortes por ano em todo o mundo. A progressão do cancro de mama pode evoluir até à formação de metástases. Tendo em conta a variabilidade dos casos de cancro de mama e a possibilidade de se tratarem de casos hereditários, torna o uso de marcadores tumorais de componente genética os mais importantes, na medida em que estes auxiliam a identificar as mutações nos genes de relevância e a prever o comportamento do tumor existente. (Haddad, 2013)

A determinação dos marcadores tumorais é uma ferramenta útil tanto a nível clínico como em indivíduos com o risco de desenvolvimento de cancro de mama elevado, não só pela história familiar, mas também derivado a outros fatores de risco presentes. Os marcadores moleculares permitem diagnosticar, prever o estadiamento e evolução do cancro, se existem respostas terapêutica positivas ou negativas, a detetar metástases, a avaliar a hereditariedade genética do cancro de mama e a desenvolver novas modalidades terapêuticas. A heterogeneidade do cancro de mama é refletida nos vários subtipos, demonstrando associações claras ou menos claras com a expressão dos marcadores tumorais. Os estudos da expressão genética vieram alterar a visão do cancro de mama e permitiu-nos uma nova ferramenta de diagnóstico molecular. (Breastcancer.org., 2016b)

Os marcadores moleculares atualmente mais importantes no estudo do cancro de mama são o recetor de estrogénio (ER), o recetor de progesterona (PR) e o recetor do fator humano de crescimento epidérmico do tipo 2 (HER2). Estes marcadores tem sido extremamente importantes na identificação de um fenótipo de alto risco e na seleção das terapias mais eficazes. Para além destes três marcadores, os de componente bioquímica são igualmente importantes, como é o caso do Ki-67, do CA 15-3 e do antígeno CEA. (National Cancer Institute, 2015b)

Para o estudo do cancro de mama hereditário, todos estes marcadores são relevantes, tal como o estudo dos genes de predisposição genética e suas mutações o são, como é o caso dos genes BRCA e o gene TP53. (Poznak et al., 2015)

#### 4.1. Marcador de proliferação Ki-67 (MKI67)

O gene MKI67 está localizado no braço longo do cromossoma 10, na posição 26 (10q26.2), codifica uma proteína nuclear que está associada ao processo de proliferação celular. (National Center for Biotechnology Information, 2016c)

Esta proteína foi identificada em 1980 através de um anticorpo monoclonal, dirigido ao antigénio nuclear da célula, o Ki-67. Atualmente, o método de análise mais usado na avaliação deste marcador é por avaliação imunohistoquímica. O antigénio Ki-67 expressa-se em fases específicas do ciclo celular, tais como a S, G1, G2 e a fase M, mas não é expresso durante a fase G0. Numa amostra de tecido mamário normal, sem componente tumoral, é expresso em níveis muito baixos, cerca de 3% das células. No estudo imunológico, por meio de coloração é possível usar o anticorpo monoclonal Ki-67 para avaliar as frações de crescimento das populações de células tumorais. (Li, Han, Liu, Liu & Dong, 2015)

Um estudo meta-analítico realizado em 2007 demonstrou que um resultado Ki-67+ confere um maior risco de recorrência de cancro de mama e diminui a taxa de sobrevivência em pacientes que tem cancro de mama numa idade mais precoce. A atividade proliferativa do Ki-67 está associada com o grau de diferenciação tumoral, invasão e metástase, assim como prognóstico. (Azambuja *et al.*, 2007)

Os valores elevados de Ki-67 estão associados a um pior prognóstico, ainda assim, não é dos marcadores mais importantes a estudar no cancro de mama hereditário. (Yadav, Chanana & Jhamb, 2015; American Cancer Society, 2016c)

A proliferação é um importante fator no desenvolvimento do cancro e a expressão aumentada de Ki-67 é muito elevada nas células carcinogénicas, predominantemente nas células ER-. Os valores elevados de Ki-67 estão também relacionados proporcionalmente com o grau e o tamanho do tumor. (Li *et al.*, 2015)

O tipo de cancro de mama com componente hereditária mais comum é o basal, apesar de não ser uma evidência linear, é o mais comum entre as mulheres com mutações nos genes BRCA1, e consequentemente em mulheres mais jovens. Este tipo de cancro é normalmente denominado de cancro de mama triplo negativo (TNBC), que é

caracterizado pela expressão negativa dos marcadores mais importantes no cancro de mama, como os recetores de estrogénio, recetores de progesterona e HER2. (Inwald et al., 2013)

A ajuda da tecnologia biomédica veio permitir o estudo deste marcador, o antígeno Ki-67, permitindo estudar a sua expressão nos casos de cancro de mama. Os cancros TNBC são extremamente invasivos, tem mau prognóstico e são bastante resistentes a terapêuticas endócrinas, estão relacionados a uma grande expressão do Ki-67, embora em Não-TNBC também seja significativamente expresso. (Yadav *et al.*, 2015)

A expressão de Ki-67 fornece informação sobre o estado de proliferação das células tumorais, a capacidade de invasão das células tumorais, o estado de crescimento do tumor e a capacidade de metastização. Quando a expressão de Ki-67 é elevada, traduz-se num aumento de todos estes fatores, verificando-se uma proliferação elevada, capacidade de invasão das células tumorais, originando metástases, e por consequência um aumento do tamanho do tumor. (National Center for Biotechnology Information, 2016d; Hirata et al., 2014)

#### **4.2. CA 15-3 e CEA**

O CA 15-3 são péptidos, formas solúveis de MUC1, que codifica para uma proteína da família das mucinas, com um papel importante na formação de barreiras mucosas com função protetora nas superfícies epiteliais. Esta proteína transmembranar consiste em duas subunidades que formam um dímero estável. A função está dividida pela influência que cada subunidade exerce sobre determinados mecanismos celulares. Na extremidade N-terminal da subunidade  $\alpha$  do gene MUC1, a função principal é predominantemente sobre a aderência celular, enquanto na extremidade C-terminal da subunidade  $\beta$  a função está intimamente ligada com a sinalização celular. (Duffy, Shering, Sherry, McDermott & O'Higgins, 2000) A expressão é mediada por duas proteases, a ADAM17 e MT-MMP1, e a sobreexpressão de CA 15-3 nos casos de cancro de mama é cerca de 90%. (Apostolopoulos, Pietersz & McKenzie, 1999)

O CA 15-3 é um marcador tumoral, proteína resultante da tradução do gene MUC1, que em 75% dos casos de cancro de mama com metástases, está aumentado. É uma glicoproteína transmembranar que está exageradamente expressa nos cancros de mama. Os valores elevados do CA 15-3 parecem ter um papel importante na causalidade de metástases cancerígenas. (Hermesen et al., 2007)

As mucinas tem demonstrado um elevado potencial no tratamento por imunoterapia, tanto no cancro de mama como no cancro do ovário. Já se identificou um hidrato de carbono capaz de transportar o CA 15-3 para se induzir uma resposta imune, das investigações sucedidas seguiram-se estudos para se avaliar a imunogenicidade de CA 15-3 e como se pode adequa-la à imunoterapia no cancro de mama. (Fett-Conte & Salles, 2002)

O CA 15-3 apenas é avaliado em tipos de cancro mais agressivos e avançados, com evidências de metástase, uma vez que os cancros detetados precocemente demonstram um tipo de cancro de mama mais simples e num estadio mais inicial, em que o valor de CA 15.3 geralmente é baixo. Valores elevados de CA 15-3 estão relacionados com piores prognósticos, geralmente, relacionados com estadios mais avançados e com um tamanho mais considerável do tumor. (Breastcancer.org., 2016b)

O CA 15-3 é detetado recorrendo a um anticorpo monoclonal que se liga especificamente ao antígeno CA 15-3 presente na amostra de sangue do doente. A informação que retiramos ao analisar este marcador é essencialmente sobre a progressão da doença, se os valores forem elevados significa que existe uma progressão da doença, sendo os valores baixos sugestivos de uma resposta à terapêutica por parte do organismo do doente, já os valores estáveis podem demonstrar um estado estável da doença. (Apostolopoulos et al., 1999)

Nas células tumorais avaliamos vários tipos de marcadores, e os antígenos podem ser vistos como marcadores genéticos com interesse no estudo do cancro de mama. As células cancerígenas expressam frequentemente antígenos que uma célula normal por norma não expressa. O padrão de expressão dos antígenos é único e é garantido por mecanismos de regulação epigenética precisos. O estudo da expressão de alguns antígenos é relevante para o conhecimento do progresso clínico da doença, tendo o cancro elevada imunogenicidade, a descoberta destas moléculas permite expandir a investigação tanto na área clínica como nos tratamentos que recorrem ao uso de imunoterapia. (Grunnet & Sorensen, 2012)

O CEA é uma glicoproteína, à semelhança do CA 15-3, é utilizada para determinar o estado de evolução do cancro de mama, nomeadamente no diagnóstico de metástases. É uma proteína normalmente encontrada no tecido do feto, quando este ainda se encontra em desenvolvimento. Os níveis de CEA decrescem após o parto, sendo encontrado no organismo em valores relativamente baixos em pessoas consideradas saudáveis. (Asad-Ur-Rahman & Saif, 2016; Canadian Cancer Society, 2016)

O teste do CEA é feito para diagnóstico e/ou para monitorizar a resposta do organismo de um determinado indivíduo com cancro. A sua aplicação é mais habitual no cancro colo-rectal, embora no cancro de mama também se use em conjunto com o marcador CA 15.3. (Geraghty, Coveney, Sherry, O'Higgins, & Dufy, 1992)

A avaliação dos valores obtidos nas análises permitem detetar a recorrência ou a falência de tratamentos. Uma descida dos valores do marcador CEA, ou a regularização normal dos mesmos, indica-nos que o organismo está a responder ao tratamento e existe uma possível recessão, no entanto, uma conclusão contraditória, com valores elevados, acima de 7,5 µg/L, pode corresponder a uma recorrência, num aumento de tamanho de tumor ou até mesmo aparecimento de metástases. (Cesar, Fonseca, Gehrke, Alves, Kuniyoshi & Del Giglio, 2012)

Os valores de CEA nem sempre podem ser fidedignos, dado que já existem estudos que comprovam que os vícios, como o tabaco, podem alterar os valores de CEA. Os fumadores que não têm cancro podem apresentar níveis de CEA aumentados, fora do que é parametrizado, tal como alguns casos de mulheres com doença benigna da mama. (Geraghty *et al.*, 1992)

O estudo dos marcadores CEA e CA 15.3 é relevante para o cancro de mama hereditário, após a deteção de metástases um cancro de mama torna-se praticamente incurável, através dos valores elevados destes dois marcadores que retiramos informação essencial para a compreensão da evolução do tumor. É essencial tanto no cancro de mama esporádico como no cancro de mama hereditário estudar a evolução destes dois marcadores, dado que os cancros de mama hereditários aparecem mais precocemente e são mais agressivos. (National Human Genome Research Institute, 2010)

O CA 15-3 e CEA devem ser adicionados à lista de marcadores a ter em conta para a escolha do tratamento adequado. A expressão de ambos ajuda na deteção de metástases, embora o marcador CA 15-3 seja o mais eficiente, é importante o uso dos valores da expressão dos dois marcadores, permitindo o diagnóstico precoce de metástases em 60-80% dos doentes com cancro de mama. (Hirata *et al.*, 2014)

#### **4.3. Genética do cancro de mama hereditário**

A contribuição de alguns genes mutados para o aumento do risco e desenvolvimento de cancro de mama e cancro do ovário já é conhecida. O aumento desta

suscetibilidade por parte de mutações existentes em genes de alta e moderada relevância, mostra que é de extrema importância o estudo nesta área. (Cesar et al., 2012)

A informação genética é constituída por milhares de genes, contidos nos 23 pares de cromossomas que cada ser humano possui no interior do núcleo de cada célula (somática), à exceção das células germinativas. Esta informação é herdada de ambos os progenitores, e por vezes, existem genes herdados com alterações. (Lynch et al., 2012)

As alterações genéticas podem ser derivadas das mutações que ocorrem provocadas por fatores exógenos, como por exemplo, fatores ambientais, tais como, o tabaco, a exposição a químicos, as infeções recorrentes, o contacto com radiação, entre outros. Por outro lado, existem também fatores endógenos, como as mutações hereditárias, as mutações adquiridas, e a exposição a hormonas. (American Cancer Society, 2016c)

No ADN humano estão presentes cerca de 24.000 genes, dos quais milhares ainda não foram identificados, atualmente, sabe-se que uma pequena porção dos genes presentes no genoma humano são relevantes para o estudo do cancro de mama hereditário. (National Human Genome Research Institute, 2010)

Os genes relevantes para o controlo do ciclo celular, intimamente envolvidos na proteção contra eventuais processos cancerígenos, ao sofrerem alterações põem em causa a execução das suas funções e levam ao aumento do risco de desenvolvimento de cancro. (Osborne et al., 2004)

As mutações que afetam estes genes podem ser de vários tipos, mas principalmente, deleções ou inserções. Estas alterações genéticas são responsáveis por 8% de todos os cancros de mama e por 25 a 40% dos casos de cancro de mama em doentes até 35 anos de idade e com história familiar. (Lux, Fasching & Beckmann, 2006)

#### **4.3.1. Penetrância dos genes de predisposição genética no cancro de mama**

A penetrância é a probabilidade de um alelo, num gene apresentar expressão fenotípica, em que o alelo pode estar mutado ou não. A penetrância completa verifica-se quando o alelo se exprime em todos os portadores, ou seja, todos os indivíduos que possuam este gene mutado, têm-no como dominante fenotipicamente. Já a penetrância incompleta significa que os portadores do alelo mutado, podem ou não evidenciar a sua expressão. (Rahman, 2014; Cesar *et al.*, 2012)

Os genes de predisposição genética podem ser classificados consoante a penetrância que apresentam, representando um risco relativo para o desenvolvimento de um cancro em particular. Podemos dividi-los em três escalões de penetrância, em alta, moderada e baixa. Um gene de alta penetrância representa o risco mais elevado para o desenvolvimento de um cancro, 5 numa escala de 1 a 5, sendo este risco representado numericamente, os genes de baixa penetrância, consequentemente representam o risco mais baixo, de 1,5, e os de penetrância moderada representam um risco relativo mais incerto, que vai de 1,5 a 5. (Rahman, 2014)

Há genes de alta penetrância que contribuem para o aumento da probabilidade de desenvolverem cancro de mama, como é o caso dos BRCA, genes mutados que são detetados na maioria das vezes em testes genéticos realizados em indivíduos com cancro de mama. Estes genes estão presentes em todos os indivíduos que possuem história de cancro de mama hereditário, uma vez que a mesma mutação é passada à geração seguinte. (BreastCancer.org, 2016g)

Os genes mutados que aumentam o risco de desenvolvimento de cancro de mama com penetrância alta, são os genes BRCA1 e BRCA2, o gene TP53 (associado à síndrome de Li-Fraumeni), o gene PTEN (associado à síndrome de Cowden), o gene CDH1 (associada ao síndrome do cancro da mama lobular), o gene STK11 (associado à síndrome de Peutz-Jeghers), e os genes MMR (associados à síndrome de Lynch. (NCCN, 2016b)

Embora os genes de alta penetrância sejam os mais importantes, outros genes adicionais, de penetrância moderada, como o gene CHEK2, o gene BRIP1, os genes RAD51c e RAD51d, o gene ATM, o gene PALB2, o gene BARD1, o gene NBS1, e o gene RAD50 estão associados a casos de cancro de mama, e a outros cancros de origem ginecológica. (William Foulkes Lab, 2016; Economopoulou, Dimitriadis & Psyrri, 2014)

As pesquisas demonstram também identificações de genes de baixa penetrância, não tão comuns como os de alta e moderada penetrância. O seu papel a nível clínico ainda é incerto, mas a contribuição para o aumento da suscetibilidade a muitas doenças complexas, incluindo o cancro de mama e outros cancros de origem ginecológica, deve ser tida em conta, embora não apareçam com tanta frequência. (American Cancer Society, 2015b)

Atualmente já existe bastante informação relativamente aos genes que intervêm no cancro de mama, mas pensa-se que em 50% dos casos hereditários a identificação de



genes mutados que influenciam o risco e a predisposição genética ainda não foram descritos. (Cesar *et al.*, 2012)

#### 4.4. Gene TP53

O gene TP53 é um gene supressor de tumor que está localizado no braço pequeno do cromossoma 17. A síndrome de Li-Fraumeni (LFS) é uma doença rara, com transmissão autossômica dominante, que é causada por mutações germinativas neste gene. O TP53 é importante no controlo do ciclo celular, na reparação do ADN, na regulação da apoptose, tornando-se essencial ao normal funcionamento da célula, na manutenção da homeostasia e da manutenção da integridade genómica. As alterações neste gene podem levar a um mau funcionamento da célula, principalmente, quando esta experimenta situações de stress celular. (National Center for Biotechnology Information, 2016e)

No cancro de mama, cerca de 30% dos pacientes são portadores de mutações no gene TP53, sendo mais frequente em TNBC. A proteína p53 é resultante da tradução do gene TP53, quando se encontra alterada está associada a uma alta taxa de proliferação celular, com recidivas da doença e morte precoce em alguns casos de cancro de mama. Recentes descobertas podem levar a reconsiderar o papel da p53 no cancro da mama, dado que as mutações no gene TP53 são as alterações genéticas frequentes, observadas em 30% dos carcinomas mamários. (Bertheau *et al.*, 2013)

As mutações que afetam este gene podem ser inserções ou deleções, embora nos cancros de mama de natureza luminal ocorram mutações “missense” na maioria dos casos e nos tipos de cancro de mama basais as mutações mais frequentes são “nonsense”. As alterações ocorrentes no gene TP53 resultam de alterações moleculares que dão origem a uma proteína mutada, com meia vida mais longa, provocando a acumulação da mesma no núcleo da célula. A acumulação da proteína p53 no núcleo celular é um indicador de mau prognóstico no cancro de mama, uma vez que a acumulação da proteína p53 está associada a mutações no gene TP53. (Hirata *et al.*, 2014)

Numa célula normal, a regulação do ciclo celular passa pela transcrição de três genes fundamentais, quando a célula apresenta alterações no seu material genético. Este gene interage com o gene p21, originando um bloqueio na inativação do pRb. A principal função é parar a progressão do ciclo celular em G1, antes da duplicação do ADN (fase S) para que uma proteína responsável pela reparação do ADN, a GADD45 execute a sua

função. Apenas em último recurso, se as primeiras proteínas não forem capazes de solucionar o problema, o gene TP53 codifica a proteína p53 que tem como função regular a apoptose celular, facilitando a transcrição da proteína Bax, indutora de apoptose celular, destruindo a célula. (Chipuk *et al.*, 2004)

O gene TP53 dá instruções ao organismo para que uma determinada proteína, p53, impeça o crescimento tumoral, a proliferação de uma célula com material genético anormal. Herdar um gene TP53 com mutações leva à síndrome Li-Fraumeni, que aumenta a predisposição do indivíduo a vários tipos de cancro, principalmente da mama. Os portadores deste distúrbio vêm a possibilidade de desenvolvimento de cancro numa idade jovem. O risco de desenvolvimento de cancro num indivíduo com mutação no gene TP53 é cerca de 100% para o sexo feminino e cerca de 73% no sexo masculino. (Breastcancer.org, 2016g)

A síndrome de Li-Fraumeni é uma condição hereditária, portanto o risco de desenvolvimento de cancro é passado de geração em geração, sendo que 70% das famílias com esta síndrome demonstram mutação no gene TP53. Uma mulher com história pessoal de cancro de mama, em que a identificação de mutações nos genes de suscetibilidade ao cancro de mama hereditário, BRCA1 e BRCA2 são negativas, e a idade em que foi realizado o diagnóstico do cancro de mama antecede os 30 anos, tem uma probabilidade de 4% a 8% de ter uma mutação no gene TP53 e ter componente hereditária aliada ao cancro de mama. (Cancer.net., 2015)

O TP53 é considerado um gene supressor de tumor, no entanto pode funcionar como um oncogene, em que a perda de função da proteína, provocada por alterações genéticas no gene, exerce um efeito negativo dominante sobre o alelo normal, ou seja, o produto da tradução do alelo mutado interage e inativa o produto da tradução do alelo normal, podendo tornar-se um indutor cancerígeno. (Chipuk *et al.*, 2004)

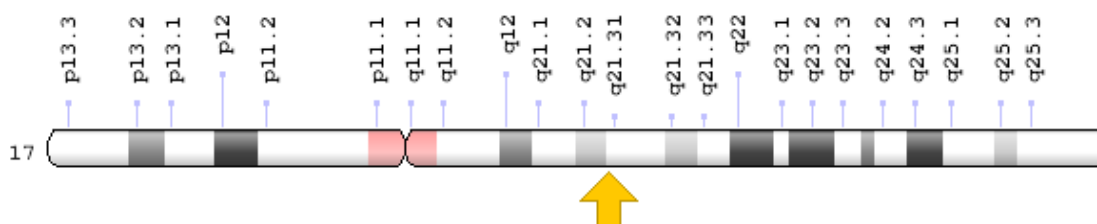
Tendo em conta a importância do gene TP53 nos casos de cancro de mama hereditário, considerado um gene de alta penetrância com risco relativo alto, torna-o um dos mais importantes a estudar, sendo atualmente incluído no painel dos testes genéticos a realizar em indivíduos diagnosticados com cancro de mama, em que o historial familiar é relevante. (Yang *et al.*, 2015)

## 4.5. Genes BRCA

Os genes BRCA são os de maior relevância, a sua funcionalidade ao ser comprometida pode tornar as famílias suscetíveis ao cancro de mama. As famílias em que esta mutação é herdada, de geração em geração, consequentemente vêm o risco de desenvolvimento de cancro de mama hereditário aumentado. (Saghir *et al.*, 2015)

### 4.5.1. Gene BRCA 1

O gene BRCA 1 foi mapeado pela primeira vez em 1990, está localizado no braço longo do cromossoma 17, na posição 21, (17q21) (Figura 9). Tem cerca de 80 kb, o seu alelo no estado normal, com 24 exões, dá origem a um mRNA com 7,8 kb, que codifica uma proteína de suscetibilidade ao cancro de mama tipo I, com cerca de 1863 aminoácidos. (Genetics Home Reference, 2016a)



**Figura 10** - Localização do gene BRCA1. Adaptado de Genetics Home Reference, (2016a)

A proteína do gene BRCA 1 atua como supressor de tumor, desempenhando um importante na manutenção da integridade e estabilidade genética de uma célula. O BRCA 1 está envolvido com diversas proteínas, como outros supressores de tumor, sensores de dano no ADN e transdutores de sinal. Estas associações formam um complexo da proteína, denominado complexo de fiscalização do genoma de BRCA-1 (Basc). (Genetics Home Reference, 2016a; Wang, Cortez, Yazdi, Neff, Elledge & Qin, 2000)

Resumindo, este gene intervém em vários mecanismos envolvidos na vida celular, interage na regulação da transcrição de genes, intervém na ubiquitinação, influencia a reparação do ADN e consequentemente a progressão do ciclo celular. (Yang *et al.*, 2015)

A reparação do ADN é a função principal do BRCA 1, as incongruências no material genético podem dever-se a vários fatores, como por exemplo, a troca de material genético, ocorrida entre os cromossomas homólogos na fase de divisão celular, ou até mesmo por influência de fatores ambientais externos ou internos, capazes de influenciar o ADN celular, como por exemplo o indivíduo ter estado na presença de radiações. (Saghir *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2015)

O gene BRCA 1 danificado, por ser alvo de uma mutação, compromete todos os mecanismos celulares em que está envolvido, nomeadamente, originar uma deficiente reparação do ADN, defeitos ao nível da transcrição dos genes e comprometer a fase G2, levando a uma regulação do ciclo celular defeituosa, principalmente ao nível dos “checkpoints”. Todas estas funções ficam comprometidas, porque a proteína para a qual o BRCA 1 codifica, pode não ser produzida, ou fica não funcional. (Petrucelli, Daly & Feldman, 2013)

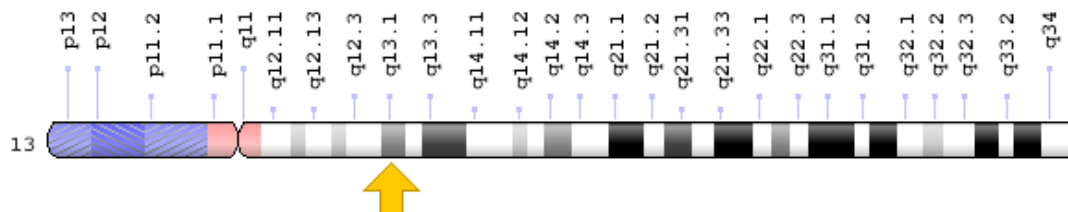
Os estudos demonstram que o BRCA 1 tem um papel importante no regulamento da atividade do c-Abl. Este proto-oncogene codifica para uma proteína tirosina quinase, que está presente no citoplasma e no núcleo celular. O c-Abl está implicado nos processos de diferenciação celular, divisão celular, adesão celular e resposta ao stress celular. O c-Abl nuclear é ativo quando existe a presença de agentes tóxicos para o genoma, por norma a célula é conduzida a um processo apoptótico, isto é, a um processo de morte celular programada. Ao realizar a apoptose, a célula danificada não se irá dividir mais, impedindo assim a formação de células comprometidas, provenientes desta. Este processo é regulado por p73 ou por Rad9. A falta do gene BRCA 1 no seu alelo normal, influencia o controlo deste processo, e consequentemente leva a uma atividade aumentada da proteína quinase do c-Abl e o processo apoptótico é diminuído. (Sirvent, Benistant & Roche, 2008)

Segundo as investigações pensa-se que a proteína resultante da tradução do gene BRCA 1, para além de estar envolvida na supressão tumoral, pode desempenhar um papel fundamental no desenvolvimento embrionário. (Petrucelli *et al.*, 2013)

#### **4.5.2. Gene BRCA 2**

O gene BRCA 2 foi mapeado pela primeira vez em 1995, está localizado no braço longo do cromossoma 13, na posição 12 (13q12.3) (Figura 10). O seu alelo no estado normal, com 27 exões, dá origem a um mRNA com 10,4 kb, que codifica a proteína de

suscetibilidade ao cancro da mama tipo 2, com cerca e 3418 aminoácidos. (Petrucelli *et al.*, 2013; Genetics Home Reference, 2016b)



**Figura 11** - Localização do gene BRCA2. Adaptado de Genetics Home Reference, (2016b).

O gene BRCA 2 é semelhante ao BRCA 1, codificam ambos para proteínas envolvidas em mecanismos de reparação de ADN, o BRCA 2 é um gene supressor de tumor tal como o BRCA 1. (Saghir *et al.*, 2015)

As mutações que ocorrem nestes dois genes levam a uma predisposição genética elevada ao cancro de mama. No caso do cancro de mama hereditário, estas mutações são herdadas em padrão mendeliano, isto é, caso um dos pais possua a mutação nos seus genes, existe cerca de 50% de hipóteses do filho herdar a mutação. (Petrucelli *et al.*, 2013)

A maioria das mutações relatadas até à data consiste em deleções frameshift, inserções ou mutações sem sentido que conduzem a uma transcrição prematura e deficiente produção da proteína, consistente com a perda de função que é esperado com mutações clinicamente significativas em genes supressores de tumor. (Yang *et al.*, 2015)

As funções que são ditas ser dos BRCA 1 e BRCA 2 são sugeridas pelas interações de ambos os genes com outras proteínas envolvidas na reparação do ADN, tais como o RAD51. (Economopoulou *et al.*, 2014)

A instabilidade genómica, proveniente de anomalias cromossómicas, tais como, quebras, aberrações mitóticas e aneuploidia, provocadas ao material genético, por falta de controlo por parte das proteínas provenientes dos genes BRCA, conduz a um grande papel no processo cancerígeno. (Cesar *et al.*, 2012)

#### **4.5.3. Mutações nos genes BRCA 1 e BRCA 2**

As mulheres que experimentam o cancro de mama numa idade mais jovem, antes dos 50 anos e que possuem na sua história familiar casos de cancro de mama, são sugestivas de carregarem nos seus genes BRCA 1 e BRCA 2 com alterações, bem como a possibilidade de um dia desenvolverem cancro de mama hereditário. (Saghir *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2015)

Os fatores de suscetibilidade genética são um papel fundamental para a predisposição ao cancro de mama hereditário. Atualmente, a variabilidade genética nos genes BRCA é um dos potenciais fatores de suscetibilidade para o cancro de mama hereditário, no entanto, as mutações são variadas, e tem tendência a ser diferentes dependendo da área geográfica e da etnia da população (Tabela 2). (Janavičius, 2010)

As mutações no BRCA1 não confere apenas um aumento do risco de desenvolvimento de cancro de mama, mas nas mulheres, aumenta o risco para o desenvolvimento de outras neoplasias, como o carcinoma do pâncreas, do cólon, do fígado e do útero. O mesmo se verifica com o gene BRCA2, para além do cancro de mama, à semelhança do BRCA1, confere risco para o desenvolvimento do cancro do pâncreas, para além destes dois tipos de cancro, ainda confere risco para o cancro do estômago, e no caso do sexo masculino, cancro da próstata. (Cesar *et al.*, 2012; Economopoulou *et al.*, 2014)

As mutações deletérias nos genes BRCA1 e BRCA2 são raras na população em geral mas nos casos de cancro de mama hereditário são mais elevadas. Este tipo de mutações é predominante em cerca de 20% em famílias com historial de cancro de mama e cerca de 12,4% em casos de cancro de mama em idades inferiores a 35 anos. Os casos com mutação deletéria no gene BRCA1 tem predominantemente carcinomas ductais triplo negativos e historia familiar de cancro de mama. As mutações nos genes BRCA2 por norma não representam casos TNBC, mas apresentam igualmente mais casos ductais do que lobulares, sendo assim os casos de cancro de mama de componente hereditária são minoritariamente de origem lobular. (Saghir *et al.*, 2015)

As mutações nos genes BRCA podem ser diferentes de acordo com a população em causa, no caso das famílias portuguesas com cancro hereditário da mama e do ovário foi descrita uma mutação fundadora no exão 3 do gene BRCA2 (c.156\_157insAlu) (Tabela 2). Esta mutação representa cerca de 30% das alterações encontradas em famílias portuguesas nos genes BRCA1 ou BRCA2. Estima-se que surgiu há  $\pm$  500 anos e nunca

foi encontrada noutra população sem ser em indivíduos portugueses ou com descendência portuguesa. (Janavičius, 2010)

As mulheres que apresentem mutações em ambos alelos dos genes, BRCA1 e BRCA2, têm tendência a desenvolver a doença mais cedo do que as mulheres que possuem apenas uma mutação. (Saghir *et al.*, 2015)

População	Mutações no gene BRCA1	Mutações no gene BRCA2
Áustria	c.181T>G c.5266dupC c.1687C>T c.3016_3019del4 c.2676_2679del4	c.8363G>A c.8754+1G>A c.3860delA
França	c.3481_3491del11 c.5128G>T	Não descritas
Espanha	c.68_69delAG c.211A>G (Galicia) c.5117G>A c.5123C>A c.470_471delCT c.5153-1G>A	c.2808_2811del4 (Castilla-Leon) c.6629_6630delAA c.9026_9030del5 c.9310_9311delAA c.5146_5149del4
Portugal	Não descritas	c.156_157insAlu
Alemanha	exon 17 deletion c.5266dupC c.181T>G c.4065_4068del4 c.2338C>T	c.1813dupA c.4478del4 c.9098dupA
Bélgica	c.2359dupG c.212+3A>G c.3661G>T	c.516+1G>A c.6275_6276delTT c.8904delC
Holanda	c.2685_2686delAA c.2193del5 c.1292dupT exon 13 deletion (3,8-kb) exon 22 deletion (510-bp)	c.5351dupA c.6275_6276delTT

**Tabela 2** - Mutações mais comuns nos genes BRCA1 e BRCA2 em alguns países da Europa.  
Adaptado de Janavičius, (2010)

#### **4.6. Outros genes de alta penetrância**

Atualmente existem diversos genes implicados na hereditariedade do cancro de mama, não são só os genes BRCA e o gene TP53 que estão incluídos. O gene PTEN está associado à síndrome de Cowden. Esta é uma doença rara, que à semelhança da síndrome de Li-Fraumeni tem a transmissão com um padrão autossómico dominante, é caracterizada por demonstrar mutações no gene “phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten” (PTEN), que está localizado no braço longo do cromossoma 10. As mulheres com síndrome de Cowden tem entre 70 a 75% de hipóteses de virem mais tarde a desenvolver a doença benigna da mama, cerca de 25 a 50% de hipóteses de desenvolverem cancro de mama ao longo da vida, cerca de 10% de probabilidade de desenvolverem cancro da tiroide e 5 a 10% de hipóteses de desenvolver cancro endométrio. (Cesar *et al.*, 2012; Janavičius, 2010)

O gene STK11 está localizado no braço pequeno do cromossoma 19, e as mutações que afetam o “serine threonine kinase 11” (STK11) estão relacionadas com a síndrome de Peutz-Jeghers. À semelhança dos outros genes de alta penetrância mencionados, a doença causada por este gene é hereditária, com transmissão autossómica dominante. Os portadores de mutações no gene STK11, tem cerca de 50% de probabilidade de desenvolverem neoplasia mamária ao longo da vida, e um risco de desenvolvimento de neoplasias em geral de 85% durante a vida. (Apostolou & Fostira, 2013)

O cancro gástrico difuso hereditário é resultante de mutações num gene supressor de tumor, o “cadherin-1” (CDH1), gene localizado braço longo do cromossoma 16. De todos os genes de alta penetrância mencionados as mutações no CDH1 são as mais raras, contudo, quem é portador desta síndrome hereditária possui um risco moderado de predisposição ao cancro de mama, cerca de 40 a 50% de hipóteses de vir a desenvolver ao longo da vida um carcinoma lobular. (Euhus & Robinson, 2013)

#### **4.7. Genes de moderada penetrância**

As alterações nos genes de moderada penetrância, como o “Cell Cycle Checkpoint Kinase 2” (CHEK2), o “Ataxia-Telangiectasia Mutated” (ATM), o “BRCA1 Interacting Protein C-terminal Helicase 1” (BRIP1) e o “Partner and Localizer of BRCA2” (PALB2) estão envolvidos em mecanismos de reparação do material genético da célula, sendo



assim, quando sofrem alterações, a sua função fica comprometida, sendo responsáveis por cerca de 2% dos casos de cancro de mama hereditário. (Stratton & Rahman, 2008)

O CHEK2 é um gene que codifica para a proteína “Cell Cycle Checkpoint Kinase 2”, que desempenha uma função de reparação do ADN, conjuntamente com BRCA1 e a proteína p53. (Apostolou & Fostira, 2013)

O BRIP1 e PALB2 também conferem um aumento moderado do risco relativo de desenvolvimento de cancro de mama. Os portadores de mutações no gene BRIP1 tem o dobro do risco da população que não possui mutações nos genes de vir a desenvolver cancro de mama, já mutações no PALB2 representam o dobro do risco ou um risco seis vezes maior do que o resto da população que não possui alterações genómicas que contribuam para a predisposição ao cancro de mama. Estes dois genes estão associados a uma doença de transmissão autossómica recessiva, que possui grande heterogeneidade genética. (Hollestelle, Wasielewski, Martens & Schutte, 2010)

As mutações no gene ATM, também conferem um risco moderado de desenvolvimento ao cancro de mama, estão envolvidas com a Ataxia-Talangiectasia, uma doença autossómica recessiva que confere uma predisposição aumentada para o desenvolvimento de neoplasias, nomeadamente cancro de mama e do ovário, entre outros. Este gene está envolvido na manutenção da estabilidade do material genético. (Apostolou & Fostira, 2013)

#### **4.8. Genes de baixa penetrância**

Os genes de baixa penetrância não conferem um risco de aumento do desenvolvimento do cancro de mama tão alto como os genes de alta penetrância ou moderada penetrância, o risco relativo conferido é ligeiro, mas a sua elevada prevalência na população torna-os um fator importante. Se um indivíduo possuir alterações em vários genes de baixa penetrância, o risco torna-se cumulativo, principalmente em indivíduos que já são portadores de mutações nos genes BRCA1 ou BRCA2, contribuindo para um risco ainda mais elevado de predisposição ao cancro de mama. (Stratton & Rahman, 2008; Mavaddat, Antoniou, Easton & Garcia-Closas, 2010)

#### **4.9. Recetores hormonais (HR)**

A percentagem de mulheres que têm estes recetores positivos é superior a 50%. De ano para ano aparecem mais de um milhão de mulheres diagnosticadas com cancro de mama, e cerca de 75% têm estes recetores positivos. (Breastcancer.org., 2016c)

Estes recetores são proteínas que se ligam às hormonas respetivas, especificamente o estrogénio a um tipo de recetor e a progesterona a outro, permitindo o crescimento das células tumorais. Os recetores estão presentes no epitélio e no estroma da mama, e regulam os efeitos celulares quando se ligam às duas hormonas. Os HR melhores estudados até à atualidade são o recetor de estrogénio (ER) e o recetor de progesterona (PR), permitindo através da sua expressão estudar as características clínicas, patológicas e moleculares dos cancros de mama. (Althuis *et al.*, 2004)

Em cerca de três indivíduos com cancro de mama, dois têm pelo menos um destes recetores positivos. A percentagem de recetores positivos tem tendência a ser mais alta em mulheres numa idade mais avançada. (Siddig *et al.*, 2008)

##### **4.9.1. Recetores de Estrogénio (ER)**

Os recetores de estrogénio (ER) são divididos em dois tipos, temos os recetores de estrogénio-alfa (ER- $\alpha$ ) e os recetores de estrogénio-beta (ER- $\beta$ ). O ER- $\alpha$  é o mais abundante no organismo, é codificado pelo gene ESR1, que está localizado, no genoma humano, no braço longo do cromossoma 6, na posição 25 (6q25.1), e o gene ESR2, que codifica o ER- $\beta$ , está localizado no braço longo do cromossoma 14, na posição 22 (14q22). (National Center for Biotechnology Information, 2016a; Surekha *et al.*, 2009)

Foi demonstrado que as proteínas resultantes dos genes ESR1 e ESR2 podem formar heterodímeros ou homodímeros, tornando bastante complexa a definição da sua função, tanto individual como combinada, dentro da célula. (Balko, Mayer, Levy, & Arteaga, 2015a)

O estrogénio é uma hormona esteroide que controla diversos processos celulares tais como a divisão celular, o crescimento, a diferenciação e a proliferação. A enzima aromatase é responsável pela conversão de androgénio em estrogénio. O estrogénio atua como um ligando, e liga-se ao recetor de estrogénio (ER), o que leva a alterações na expressão de genes e a ativação de vias de sinalização que regulam os processos de

crescimento celular, tais como o controlo do ciclo celular e a via de sinalização. (Yadav, Sem & Preeti, 2012)

Estes recetores são essenciais para o desenvolvimento sexual e função reprodutora, mas também desempenham um papel noutros tecidos, tais como osso. Os recetores de estrogénio também estão envolvidos em processos patológicos, incluindo o cancro da mama, a expressão da proteína recetor de estrogénio (ER) ocorre em 73-75% dos cancros da mama, em geral, acompanhada da expressão do recetor de progesterona (PR), que ocorre em metade dos cancros da mama positivo para HER2. (Breastcancer.org., 2016d)

A expressão do ER é importante, não só porque consegue ajudar na classificação do tipo de cancro de mama, mas também por ser um importante dado preditor de eficácia para três classes de agentes endócrinos, usados no tratamento do cancro de mama, como os inibidores de aromatase, moduladores seletivos do recetor de estrogénio (SERM) e os “downregulators” seletivos do estrogénio (SERD). (Breastcancer.org., 2016e; National Center for Biotechnology Information, 2016b)

#### **4.9.2. Recetores de Progesterona (PR)**

O gene PGR codifica para outro membro importante da família dos recetores esteroides, os recetores de Progesterona (PR). Este gene está localizado no braço longo do cromossoma 11, na posição 21 (11q22.1). A proteína está envolvida no processo fisiológico da progesterona, que tal como o estrogénio, desempenha um papel central na reprodução, estabelecimento e manutenção da gravidez. (Balko, Mayer, Levy & Arteaga, 2015b)

Este gene codifica para duas formas originais de recetores de progesterona, uma isoforma A, com cerca de 94 kDA e uma isoforma B com cerca de 114 kDA. Ambas as proteínas são codificadas a partir do gene PGR, mas têm diferenças entre elas, resultam da transcrição de dois promotores distintos e da tradução de dois codões de iniciação (AUG) alternativos do mRNA. A isoforma B é constituída com uma região de 164 aminoácidos na extremidade N-terminal, cuja isoforma A não possui. (Balko, Mayer, Levy & Arteaga, 2015c)

A PGR-A e a PGR-B, apesar de serem semelhantes, apresentam atividades muito diferentes na transcrição na célula. A diferença entre as duas está presente na região amino-terminal, no qual PGR-B possui um domínio de transativação adicional. Esta

diferença determina que a PGR-A atue como um repressor da atividade de PGR-B. Os estudos realizados sugerem que PGR-A e PGR-B regulam diferentes genes, e os seus níveis de expressão são relativamente diferentes. (Kaya *et al.*, 2015)

O PR desempenha um papel muito importante na patogenicidade dos cancros, principalmente no cancro de mama. A expressão dos recetores de progesterona ocorre aproximadamente em metade dos casos de cancro de mama e em 55 a 58% dos casos de cancro de mama invasivos. A nível da divisão celular, a progesterona é capaz de prolongar a fase G1 do ciclo celular, por regular algumas ciclinas, no entanto é capaz de inibir o ciclo celular através da indução da p21 e p27. A ação da progesterona no cancro de mama gera ainda alguma controvérsia, uma vez que exerce função de estimulação e inibição do ciclo celular. (Breastcancer.org., 2014)

Em cerca de 83% dos casos de cancro de mama em que os pacientes tem expressão de recetores de estrogénio positivos, também têm expressão dos recetores de progesterona positivos. (Onitilo, Engel, Greenlee & Mukesh, 2009)

#### **4.9.3. Expressão de ER e PR no cancro de mama hereditário**

Segundo as guidelines American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists (ASCO/CAP) recomenda-se que os recetores ER e PR devem ser determinados em todos os cancros da mama invasivos e recorrências de cancro da mama, baseando-se num algoritmo, para minimizar as variações e tornar o ensaio o mais fiável possível. (Balko, Mayer, Levy & Arteaga, 2015d; Breastcancer.org., 2014)

A expressão dos ER e PR são importantes para o prognóstico e estudo da resposta à terapêutica endócrina no cancro de mama, o estudo da imunohistoquímica (IHC) destes dois tipos de recetores pode ser feita por vários métodos, depende por qual das guidelines os laboratórios se seguem, por exemplo, segundo as guidelines da National Comprehensive Cancer Network (NCCN), a expressão do PR e do ER no tecido tumoral do cancro de mama invasivo ou carcinoma ductal in situ (DCIS), deve ser medido através de ensaios de IHC validados. (Balko, Mayer, Levy & Arteaga, 2013)

A maioria dos cancros de mama são hormona-recetor-positivos, cerca de 80% dos cancros de mama são ER+, enquanto 65% dos cancros de mama são ER+/PR+, tendo nas células ambos os recetores, suportando o crescimento tumoral, no entanto, cerca de 13% dos cancros de mama são apenas ER+ e PR-, sugerindo que o suporte de crescimento tumoral e a disseminação celular seja suportado pelo estrogénio. No caso dos cancros de

mama em que apenas PR é + e ER-, é sugestivo que o suporte do crescimento tumoral seja efetuado pela progesterona, representam cerca de 2% dos casos. (Groep *et al.*, 2011)

Os resultados das expressões das hormonas no cancro de mama quer tenham apenas ER+, ou PR+, ou ambos, significa que se tratam de cancros hormona-recetor-positivos, tendo em conta estes casos, a terapia hormonal é uma opção de tratamento, que pode ajudar a parar ou a diminuir o crescimento das células tumorais do cancro de mama, diminuindo os valores de estrogénio do organismo ou bloqueando os efeitos da hormona. Este tipo de medicação pode auxiliar na diminuição de recidivas do cancro de mama. (Groep *et al.*, 2011)

Os cancros de mama hereditários, com mutações no gene BRCA1 são caracterizados por uma baixa expressão do ER- $\alpha$ . Em 1997, foram descritos os primeiros casos de cancro de mama hereditário com mutações no gene BRCA1, em que a expressão do ER- $\alpha$  era baixa, em comparação com os casos de cancro de mama esporádico. Os estudos subsequentes vieram confirmar esta observação, e relacionando-a com o fato da expressão dos recetores hormonais ser mais alta nos casos de cancro de mama numa idade mais avançada, dado que os cancros de mama hereditários tem tendência a ser numa idade mais precoce. O mesmo não se verifica com o ER- $\beta$ , em contraste com o ER- $\alpha$ , nos casos de cancro de mama de componente hereditária com mutações no gene BRCA1, existe uma expressão elevada do recetor. À semelhança do ER- $\alpha$ , também o PR tem uma expressão mais baixa nos casos de componente hereditária. (Lovly *et al.*, 2015)

#### **4.10. Recetor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER2)**

O HER2 é um oncogene, que codifica uma proteína pertencente à família dos recetores de tirosina cinase, o gene HER2 também denominado ERBB2, está localizado no cromossoma 17, e descobriu-se que na maioria dos cancros ele está amplificado, estando envolvido na patogénese e promovendo a tumorogénese. (Breastcancer.org., 2016f)

Tal como os recetores de progesterona e estrogénio, o gene HER2 codifica para uma proteína HER2 com função de recetor, que ajuda a controlar o crescimento natural das células e a sua divisão, no entanto, em cerca de 25% dos casos de cancro de mama, a sua expressão está aumentada, exercendo a mesma função mas com mais intensidade. Devido ao número extra de cópias da proteína, existe uma maior interferência com o crescimento e proliferação das células tumorais da mama, fazendo com que se dividam e

creçam de uma maneira descontrolada. Os casos de cancro de mama com uma amplificação no gene HER2 são denominados de HER2+. Este tipo de cancros são conhecidos por crescerem mais rápido e terem a capacidade de se disseminarem mais precocemente do que os cancros de mama HER2-. (Cheang *et al.*, 2009)

O gene HER2 com mutação não é herdado dos pais, considera-se que este tipo de mutação é somática, ocorrendo posteriormente à formação de um indivíduo. Tendo em conta este fator, ter um parente próximo com uma mutação no gene HER2, não aumenta o risco de desenvolvimento de cancro de mama para o familiar, uma vez que a mutação não é herdada mas sim adquirida ao longo da vida devido a outros fatores. (ASCO annual meeting, 2010)

Os casos de cancro de mama que possuem o marcador HER2+ têm tendência a ser mais agressivos. Em casos de cancro de mama hereditários, onde existem mutações em genes de alta penetrância, como no caso dos genes BRCA, por norma não apresentam expressão de HER2+. Um estudo co-hort realizado em 2010 determinou a % de expressão de HER2+ e se a sua associação aos cancros de mama com mutações nos genes BRCA era frequente, e verificou-se que esta associação não era significativa. (My cancer genome, 2015)

## 5. Conclusão

A identificação dos genes de predisposição para o cancro de mama, como o BRCA1 e BRCA2 é relativamente recente, foram sequenciados na década de 90, mas só anos mais tarde foram relacionados com o cancro. Desde então tem havido grandes progressos na caracterização de mutações noutros genes (com diferentes penetrâncias e frequências), responsáveis também por um aumento predisposição genética ao cancro de mama.

A grande maioria das mutações que ocorrem no nosso ADN são neutras, isto é, não têm quaisquer efeitos no organismo humano, não são nocivas. Algumas mutações conferem um risco aumentado para o desenvolvimento de cancro aos indivíduos que as possuem no seu ADN germinativo, isto é, no ADN herdado dos progenitores. O tipo de cancro provocado em parte por estas mutações é designado de cancro hereditário.

O cancro de mama hereditário não é apenas provocado pelas mutações nos genes de suscetibilidade, apesar de estas serem uma das principais etiologias para o desenvolvimento da neoplasia. Os fatores de risco associados ao aumento da predisposição ao desenvolvimento do cancro de mama são igualmente importantes, e devem ser considerados, principalmente em indivíduos com mutações nos genes BRCA1 e BRCA2, uma vez que o risco relativo conferido por estes genes já é elevado, os fatores de risco que se podem evitar são de extrema importância.

Os genes BRCA1 e BRCA2 são os responsáveis pela maioria dos casos de cancro de mama hereditário.

Atualmente existem modelos para o cálculo do risco de cancro da mama e ovário hereditário, que se baseiam na presença de mutações patogénicas, em genes cuja alteração contribuiu para o desenvolvimento do cancro. Estes genes são nomeadamente genes de alta penetrância, como BRCA1, BRCA2, PTEN, TP53, STK11 e CDH1.

Os testes genéticos de diagnóstico contemplam não só os marcadores tumorais de componente genética, os marcadores genéticos, como o BRCA1, BRCA2, PTEN, TP53, STK11 e CDH11, mas também os marcadores tumorais de origem molecular, que permitem ter uma visão mais alargada sobre a situação clínica do indivíduo, principalmente quando este já se encontra afetado pelo cancro de mama.

Os marcadores tumorais mais relevantes nos cancros de mama hereditários são coincidentes com os estudados no cancro de mama esporádico, com a diferença de que

são expressos de maneira diferente, em ambos os tipos de cancro de mama, esporádico e hereditário.

O cancro de mama manifesta-se em diferentes tipos, no caso do cancro de mama hereditário o mais comum é o carcinoma ductal, em detrimento do lobular. Os cancros de mama hereditários tem tendência a serem numa idade mais precoce, e mais agressivos, tendo em conta que o organismo tem um metabolismo mais rápido em idades mais jovens. É característico o cancro de mama hereditário manifestar-se mais como TNBC, sendo o mais frequente. Caracteriza-se por ser negativo nos marcadores tumorais hormonais, como os recetores de estrogénio e progesterona e no marcador HER2, dificultando o uso de imunoterapia no tipo de tratamento.

Os marcadores antigénicos como o CA 15-3 e CEA, são importantes no estudo do cancro de mama em geral, uma vez que através das suas expressões se retira informação sobre a evolução do cancro, como a deteção de metástases por exemplo. Os antigénios CA 15-3 e o CEA não devem ser usados para rastreio ou diagnóstico do cancro da mama, mas sim como preditores de prognóstico do indivíduo afetado. Desta forma, o seu uso é importante na monitorização do tratamento, avaliação da evolução do estado clínico e deteção de recidivas.

À semelhança do CA 15-3 e do CEA, o aumento expressão de Ki-67 dá-nos informação sobre o estado de proliferação das células tumorais, o reforço da capacidade de invasão, o crescimento mais rápido do tumor e a alta incidência de metástases. Uma vez que os TNBC são os mais frequentes entre os casos de cancro de mama hereditário, e são extremamente invasivos, na maioria das vezes apresentam mau prognóstico e são bastante resistentes a terapêuticas endócrinas, o Ki-67 deve contemplar nos testes genéticos de indivíduos que com historia pessoal de cancro de mama.

O uso de marcadores genéticos e marcadores de origem molecular é uma grande estratégia terapêutica de grande relevância clínica. Os testes genéticos a realizar em indivíduos sugestivos de cancro de mama hereditário devem contemplar todos estes marcadores, obviamente os principais serão os genes de relevância que contribuem para o aumento do risco de desenvolvimento de cancro de mama, no entanto os marcadores de prognóstico são igualmente importantes, uma vez que eles nos ajudam a classificar, a diagnosticar, a detetar possíveis recidivas e sobretudo, a interferirem no auxílio da escolha do tratamento adequado e a interpretar a resposta do organismo ao tratamento que efetuado.



O avanço da tecnologia biomédica na área da genética permitiu ajudar muitas mulheres, a conhecerem o seu risco, a sua predisposição para o cancro de mama, a serem diagnosticadas em estadios mais precoces da doença, evitando encontrar um estado de evolução mais complicado, com pior prognóstico. Assim, a pesquisa intensa destes genes de suscetibilidade genética e de marcadores tumorais que são cruciais para o estudo do curso da doença, podem ajudar a desenvolver melhores tratamentos e a evitar alguns casos de cancro de mama.

Apesar da evolução da medicina, ainda é necessário aprofundar a área ligada aos cancros hereditários como o da mama. O conhecimento atual já é vasto e já conseguimos através dos testes genéticos reduzir algum risco de desenvolvimento de cancro de mama. É importante continuar a batalhar na área da genética, para que no futuro a incidência desta neoplasia comece a diminuir. O estudo do cancro de mama hereditário é mais focado em cada individuo, dado que as mutações e as expressões dos marcadores podem sofrer alterações de família para família, é cada vez mais importante adaptar a medicina a cada caso, personalizando-a.



## 6. Referências bibliográficas

- Abel, E. L., Angel, J. M., Kiguchi, K. & DiGiovanni, J. (2009). Multi-stage chemical carcinogenesis in mouse skin: Fundamentals and applications. *Nat Protoc*, 4(9), 1350–1362. doi:10.1038/nprot.2009.120.
- Abukhdeir, A. M. & Park, B. H. (2008). p21 and p27: roles in carcinogenesis and drug resistance. *Expert Rev Mol Med*, 10(19). doi:10.1017/S1462399408000744
- Ahmad, A., Wang, Z., Ali, R., Bitar, B., Logna, F. T., Maitah, M. Y., ... Sarkar, F. H. (2012). Cell Cycle Regulatory Proteins in Breast Cancer: Molecular Determinants of Drug Resistance and Targets for Anticancer Therapies. In R. Aft (Ed.), *Targeting New Pathways and Cell Death in Breast Cancer* (pp.113-125). Detroit, USA: InTech
- Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., ... Walter, P. (2010). The Cell Division Cycle. In *Essential cell biology* (3rd ed., pp.609-650). Garland Science.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. & Walter, P. (2002). *Molecular Biology of the Cell*. New York, EUA: Garland Science.
- Alluri, P. & Newman, L. (2014). Basal-like and Triple Negative Breast Cancers: Searching For Positives Among Many Negatives. *Surg Oncol Clin N Am.*, 23(3), 567-577.
- Althuis, M. D., Fergenbaum, J. H., Garcia-Closas, M., Brinton, L. A., Madigan, M. P. & Sherman, M. E. (2004). Etiology of hormone receptor-defined breast cancer: a systematic review of the literature. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 13(10), 1558–1568.
- American Cancer Society. (2015a). Lymphedema: What Every Woman With Breast Cancer Should Know. Consultado a 30 de Agosto, 2016. Disponível em <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/002876-pdf.pdf>

American Cancer Society. (2015b). Breast cancer prevention and early detection. Consultado a 2 de Agosto, 2016. Disponível em <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003165-pdf.pdf>

American Cancer Society. (2016a). Types of Breast Cancer. Consultado a 21 de Setembro, 2016. Disponível em <http://www.cancer.org/cancer/breastcancer/detailedguide/breast-cancer-breast-cancer-types>

American Cancer Society. (2016b). How is breast cancer classified? Consultado a 4 de Setembro, 2016. Disponível em <http://www.cancer.org/cancer/breastcancer/detailedguide/breast-cancer-classifying>

American Cancer Society. (2016c). Breast Cancer. Consultado a 20 de Setembro, 2016. Disponível em <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003090-pdf.pdf>

Apostolou P, Fostira F. (2013). Hereditary breast cancer: the era of new susceptibility genes. *BioMed research international*, 1-11. doi: 10.1155/2013/747318

Apostolopoulos, V., Pietersz, G. A. & McKenzie, I. F. (1999). MUC1 and breast cancer. *Curr Opin Mol Ther*, 1(1), 98-103.

Asad-Ur-Rahman, F. & Saif, M. W. (2016). Elevated Level of Serum Carcinoembryonic Antigen (CEA) and Search for a Malignancy: A Case Report. *Cureus*, 8(6), 648. doi: 10.7759/cureus.648.

ASCO annual meeting. (2010). Are HER2-positive breast cancer and BRCA mutation-associated breast cancer mutually exclusive diseases- Evidence from the Mayo Clinic Arizona cohort. Consultado a 10 de Outubro, 2016. Disponível em <http://meetinglibrary.asco.org/content/60647-100>

- Azambuja, E., Cardoso, F., Castro, G. Jr., Colozza, M., Mano, M.S., Durbecq, V., ... Paesmans, M. (2007). Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12,155 patients. *Br J Cancer*, 96(10), 1504-13. doi: 10.1038/sj.bjc.6603756
- Balko, J. M., Mayer, I. A., Levy, M., Arteaga, C. (2013). PR (PGR) in Breast Cancer in My Cancer Genome. Consultado a 3 de Outubro, 2016. Disponível em <https://www.mycancergenome.org/content/disease/breast-cancer/pgr/>
- Balko, J. M., Mayer, I. A., Levy, M., Arteaga, C. L. (2015a). ER (ESR1) in My Cancer Genome. Consultado a 30 de Setembro, 2016. Disponível em <https://www.mycancergenome.org/content/gene/esr1/>
- Balko, J. M., Mayer, I. A., Levy, M., Arteaga, C. L. (2015b). PR (PGR) in My cancer Genome. Consultado a 30 de setembro, 2016. Disponível em <https://www.mycancergenome.org/content/disease/breast-cancer/pgr/?tab=0>
- Balko, J. M., Mayer, I. A., Levy, M., Arteaga, C. (2015c). PR (PGR) Expression in Breast Cancer in My Cancer Genome. Consultado a 2 de Outubro, 2016. Disponível em <https://www.mycancergenome.org/content/disease/breast-cancer/pgr/249/>
- Balko, J. M., Mayer, I. A., Levy, M., Arteaga, C. (2015d). ER (ESR1) Expression in Breast Cancer in My Cancer Genome. Consultado a 5 de Outubro, 2016. Disponível em <https://www.mycancergenome.org/content/disease/breast-cancer/esr1/248/>
- BC Cancer Agency. (2014). Breast. Consultado a 1 de Setembro, 2016. Disponível em <http://www.bccancer.bc.ca/health-info/types-of-cancer/breast-cancer/breast>
- Bertheau, P., Lehmann-Che, J., Varna, M., Dumay, A., Poirot, B., Porcher, R., ... Espié, M. (2013). p53 in breast cancer subtypes and new insights into response to chemotherapy. *Breast*, 2, 27-9. doi: 10.1016/j.breast.2013.07.005.

- Berliner, J. L., Fay, A. M., Cummings, S. A., Burnett, B. & Tillmanns, T. (2013). NSGC practice guideline: risk assessment and genetic counseling for hereditary breast and ovarian cancer. *Journal of genetic counseling*, 22(2), 155-63.
- Biology. (2016). Consultado a 4 de Agosto, 2016. Disponível em: <file:///C:/Users/Leonor/Downloads/biology-10.53.pdf>
- Boeri, L., Canzonieri, C., Cagioni, C., Ornati, F., Danesino, C. (2011). Breast cancer and genetics. *Journal of ultrasound*, 14(4), 171-6.
- Breastcancer.org. (2014). How to Read Hormone Receptor Test Results. Consultado a 3 de Outubro, 2016. Disponível em [http://www.breastcancer.org/symptoms/diagnosis/hormone\\_status/read\\_results](http://www.breastcancer.org/symptoms/diagnosis/hormone_status/read_results)
- Breastcancer.org. (2016a). Types of Breast Cancer. Consultado a 15 de Setembro, 2016. Disponível em <http://www.breastcancer.org/symptoms/types>
- Breastcancer.org. (2016b) Blood Marker Tests. Consultado a 15 de Setembro, 2016. Disponível em [http://www.breastcancer.org/symptoms/testing/types/blood\\_marker](http://www.breastcancer.org/symptoms/testing/types/blood_marker)
- Breastcancer.org. (2016c) Hormone Receptor Status. Consultado a 1 de Outubro, 2016. Disponível em [http://www.breastcancer.org/symptoms/diagnosis/hormone\\_status](http://www.breastcancer.org/symptoms/diagnosis/hormone_status)
- Breastcancer.org. (2016d). Estrogen Receptor Downregulators (ERDs). Consultado a 30 de Setembro, 2016. Disponível em <http://www.breastcancer.org/treatment/hormonal/erds>
- Breastcancer.org. (2016e). Selective Estrogen Receptor Modulators (SERMs). Consultado a 30 de Setembro, 2016. Disponível em <http://www.breastcancer.org/treatment/hormonal/serms>
- BreastCancer.org. (2016g). Genetics. Consultado a 27 de Setembro, 2016. Disponível em <http://www.breastcancer.org/risk/factors/genetics>

Breastcancer.org. (2016f). HER2 Status. Consultado a 7 de Outubro, 2016. Disponível em <http://www.breastcancer.org/symptoms/diagnosis/her2>

Caldon, C. E., Daly, R. J., Sutherland, R. L. & Musgrove, E. A. (2006). Cell cycle Control in Breast Cancer Cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, 97(2), 261-274. doi: 10.1002/jcb.20690

Canadian Cancer Society. (2012). What is breast cancer?. Consultado a 30 de Julho, 2016. Disponível em <http://www.cancer.ca/en/cancer-information/cancertype/breast/breast-cancer/?region=on>

Canadian Cancer Society. (2016). Carcinoembryonic antigen (CEA). Consultado a 18 de Outubro, 2016. Disponível em <http://www.cancer.ca/en/cancer-information/diagnosis-and-treatment/tests-and-procedures/carcinoembryonic-antigen-cea/?region=on>

Cancer.net. (2015). Li-Fraumeni Syndrome. Consultado a 15 de Outubro, 2016. Disponível em <http://www.cancer.net/cancer-types/li-fraumeni-syndrome>

Cancer Research UK. (2015). Types of Breast Cancer. Consultado a 21 de Setembro, 2016. Disponível em <http://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/type/breast-cancer/about/types/>

Cell Biology and Cancer. (2013). Consultado a 5 de Agosto, 2016. Disponível em [https://www.learner.org/courses/biology/support/8\\_cancer.pdf](https://www.learner.org/courses/biology/support/8_cancer.pdf)

Cesar, P. G. C., Fonseca, F. L. A., Gehrke, F. S., Alves, B. C. A., Kuniyoshi, R. K., & DelGiglio, A. F. L. (2012). Use of a gene platform in breast cancer prognosis. *Arquivos Brasileiros de Ciências da Saúde*, 154-161.

Cheang, M. C. U., Chia, S. K., Voduc, D., Gao, D., Leung, S., Snider, J., ... Nielsen, T. O. (2009). Ki67 Index, HER2 Status, and Prognosis of Patients With Luminal B

- Breast Cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 101(10), 736-750. doi: 10.1093/jnci/djp082
- Chipuk, J. E., Kuwana, T., Bouchier-haeyes, L., Droin, N. M., Newmeyer, D. D., Schuler, M. & Green, D. R. (2004). Direct Activation of Bax by p53 Mediates Mitochondrial Membrane Permeabilization and Apoptosis. *Science*, 303, 1010-1014.
- Civetta, M. T. M. & Civetta, J. D. (2011). Carcinogénese. *Salud Pública de México*, 53(5), 405-414.
- Cooper, G. M., Hausman, R. E. (2013). *The Cell: A Molecular Approach*. Boston, EUA: Sinauer Associates, Inc.
- Creighton, C. J. (2012). The molecular profile of luminal B breast cancer. *Biologics*, 6, 289-297.
- Direção-Geral de Saúde. (2016). Dia Mundial de Luta contra o Cancro - 4 fevereiro. Consultado a 30 de Maio, 2016. Disponível em <https://www.dgs.pt/em-destaque/dia-mundial-de-luta-contra-o-cancro-4-fevereiro.aspx>
- Duffy, M. J., Shering, S., Sherry, F., McDermott, E. & O'Higgins, N. (2000). CA 15-3: a prognostic marker in breast cancer. *Int J Biol Markers*, 15(4), 330-333.
- Ellis, H., & Mahadevan, V. (2013). Anatomy and physiology of the breast. *Surgery*, 31(1), 11-14.
- Eroles, P., Bosch, A., Pérez-Fidalgo, J. A. & Lluch, A. (2012). Molecular biology in breast cancer: Intrinsic subtypes and signaling pathways. *Cancer Treatment Reviews*, 38, 698-707. doi: 10.1016/j.ctrv.2011.11.005
- Economopoulou, P., Dimitriadis, G., Psyrris, A. (2014). Beyond BRCA: New hereditary breast cancer susceptibility genes. *Cancer Treatment Reviews*, 41, 1-8.



- Euhus DM, Robinson L. (2013). Genetic predisposition syndromes and their management. *The Surgical clinics of North America*, 93(2), 341-62.
- Fernandes, G. C., Michelli, R., Scapulatempo-Neto, C. & Palmero, E. (2016). Association of polymorphisms with a family history of cancer and the presence of germline mutations in the BRCA1/BRCA2 genes. *Hereditary Cancer in Clinical Practice*, 14(2), 1-9. doi: 10.1186/s13053-015-0042-1
- Fernández, P. L., Jares, P., Rey, M. J., Campo, E. & Cardesa, A. (1998). Cell cycle regulators and their abnormalities in breast cancer. *Journal of Clinical Pathology: Molecular Pathology*, 51(6), 305-309. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC395656/pdf/510305.pdf>
- Fett-Conte, A. C. & Salles, A. B .C. F. (2002). A importância do gene p53 na carcinogênese humana. *Rev.bras.hematol.hemoter*, 24(2), 85-89.
- Genetics Homes Reference. (2016a). BRCA1 gene. Consultado a 15 de Outubro, 2016. Disponível em <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/BRCA1#location>
- Genetics Homes Reference. (2016b). BRCA2 gene. Consultado a 15 de Outubro, 2016. Disponível em <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/BRCA2#location>
- Giacinti, C. & Giordano, A. (2006). RB and cell cycle progression. *Oncogene*, 25, 5220-5227. doi: 10.1038/sj.onc.1209615
- Groep, P. V., Wall, E. V. & Diest, P. J. V. (2011). Pathology of hereditary breast cancer. *Cell Oncol*, 34, 71-78. doi: 10.1007/s13402-011-0010-3
- Grunnet, M. & Sorensen, J. B. (2012). Carcinoembryonic antigen (CEA) as tumor marker in lung cancer. *Lung Cancer*, 76(2), 138-43. doi: 10.1016/j.lungcan.2011.11.012.
- Geraghty, J. G., Coveney, E. C., Sherry, F., O'Higgins, N. J. & Dufy, M. J. (1992). CA 15-3 in patients with locoregional and metastatic breast carcinoma. *Cancer*, 70(12), 2831-2834. doi: 10.1002/1097-0142(19921215)70:12

- Guiu, S., Michiels, S., André, F., Cortes, J., Denkert, C., Leo, A., Di, ... Reis-Filho, J. S. (2012). Molecular subclasses of breast cancer: how do we de fi net hem? The IMPAKT 2012 Working Group Statement. *Annals of Oncology*, 23(12), 2997-3006. doi: 10.1093/annonc/mds586
- Haddad, C. F. (2013). Axillary Surgery in Breast Cancer: an overview. *Sis journal*, 2(1), 1-16.
- Harris, J. R., Lippman, M. E., Osborne, C. K. & Morrow, M. (2010). Diseases of the Breast. (4ªEdição.) Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Hermesen, B. B., Verheijen, R. H., Menko, F. H., Gille, J. J., Uffelen, K., Blankenstein, M. A., ... Mensdorff-Pouilly, S. (2007). Humoral immune responses to MUC1 in women with a BRCA1 or BRCA2 mutation. *Eur J Cancer*, 43(10), 1556-63.
- Hirata, B. K. B., Oda, J. M. M., Guembarovski, R. L., Ariza, C. B., Oliveira, C. E. C., Watanabe, M. A. (2014). Molecular Markers for Breast Cancer: Prediction on Tumor Behavior. *Hindawi Publishing Corporation*, 12. doi: 10.1155/2014/513158
- Hollestelle, A., Wasielewski, M., Martens, J. W., Schutte, M. (2010). Discovering moderate-risk breast cancer susceptibility genes. *Current opinion in genetics & development*, 20(3), 268-76.
- International Agency for Research on Cancer. (2012). Globocan 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. Consultado a 2 Junho, 2016. Disponível em [http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_cancer.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx)
- Inwald, E. C., Klinkhammer-Schalke, M., Hofsta"tter, F., Zeman, F., Koller, M., Gerstenhauer, M. & Ortmann, O. (2013). Ki-67 is a prognostic parameter in breast cancer patients: results of a large population-based cohort of a cancer registry. *Breast Cancer Res Treat*, 139, 539–552. doi: 10.1007/s10549-013-2560-8

- Janavičius, R. (2010). Founder BRCA1/2 mutations in the Europe: implications for hereditary breast-ovarian cancer prevention and control. *EPMA Journal*, 1, 397–412. doi: 10.1007/s13167-010-0037-y
- Kaya, H. S., Hantak, A. M., Stubbs, L. J., Taylor, R. N., Bagchi, I. C. & Bagchi, M. K. (2015). Roles of Progesterone Receptor A and B Isoforms During Human Endometrial Decidualization. *Mol Endocrinol*, 29(6), 882-895. doi: 10.1210/me.2014-1363
- Kaye, J. a., Meier, C. R., Walker, A. M. & Jick, H. (2002). Statin use, hyperlipidaemia, and risk of breast cancer. *British Journal of Cancer*, 86, 146-1439. doi: 10.1038/sj/bjc/6600267
- Kufe, D. W., Pollock, R. E., Weichselbaum, R. R. (2003). *Holland-Frei Cancer Medicine* 6th edition. Hamilton, EUA: BC Decker.
- Lacroix, M. & Leclercq, G. (2005). The “portrait” of hereditary breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 89, 297–304
- Lynch, H. T., Snyder, C. & Lynch, J. (2012). Hereditary breast cancer: practical pursuit for clinical translation. *Ann Surg Oncol*, 19(6), 1723-31. doi: 10.1245/s10434-012-2256-z
- Liga Portuguesa Contra o Cancro. (2009). Cancro de mama. Consultado a 30 de Julho, 2016. Disponível em <https://www.ligacontracancro.pt/cancro-da-mama/>
- Lorgeril, M. & Salen, P. (2014). Do statins increase and Mediterranean diet decrease the risk of breast cancer? *BMC Medicine*, 12(94). doi: 10.1186/1741-7015-12-94
- Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C. A., Krieger, M., Bretsher, A., Ploegh, H., ... Scott, M. P. (2012). The eukaryotic cell cycle. In *Molecular Cell Biology* (7th ed., pp. 873-924). W.H Freeman.

- Lovly, C. M., Shi, C., Watson, G. T., Horn, L., Pohlmann, P., Goff, L. W. (2015). HER2 (ERBB2) in My Cancer Genome. Consultado a 7 de Outubro, 2016. Disponível em <https://www.mycancergenome.org/content/disease/breast-cancer/erbb2/?tab=0>
- Li, H., Han, X., Liu, Y., Liu, G. & Dong, G. (2015). Ki67 as a predictor of poor prognosis in patients with triple-negative breast cancer. *Oncology Letters*, 9, 149-152. doi: 10.3892/ol.2014.2618
- Lynch, H. T., Snyder, C., Lynch, J. (2012). Hereditary breast cancer: practical pursuit for clinical translation. *Annals of surgical oncology*, 19(6), 1723-31. Doi: 10.1245/s10434-012-2256-z
- Lux, M. P., Fasching, P. A., Beckmann, M. W. (2006). Hereditary breast and ovarian cancer: review and future perspectives. *J Mol Med (Berl)*, 84(1), 16-28. DOI2: 10.1007/s00109-005-0696-7
- Manual MSD. (2009). Cancro de mama. Consultado a 1 de Julho, 2016. Disponível em <http://www.manuaismsd.pt/?id=264&cn=1691>
- Marchina, E., Fontana, M. G., Speziani, M., Salvi, A., Ricca, G., Di Lorenzo, D., ... Barlati, S. (2010). BRCA1 and BRCA2 genetic test in high risk patients and families: counselling and management. *Oncol Rep.*, 24(6), 1661-1667. doi: 10.3892/or\_00001031
- Mechanisms of Carcinogenesis 3. (2008). Consultado a 15 de Agosto, 2016. Disponível em [https://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/wcr/2008/wcr\\_2008\\_5.pdf](https://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/wcr/2008/wcr_2008_5.pdf)
- My cancer genome. (2015). MKI67. Consultado a 7 de Outubro, 2016. Disponível em <https://www.mycancergenome.org/content/gene/mki67/>
- Mavaddat, N., Antoniou, A. C., Easton, D. F. & Garcia-Closas, M. (2010). Genetic susceptibility to breast cancer. *Molecular oncology*, 4(3), 174-91.

- National Breast Cancer Foundation, INC. (2015). Breast Cancer Types. Consultado a 21 de Setembro, 2016. Disponível em <http://www.nationalbreastcancer.org/types-of-breast-cancer>
- National Cancer Institute. (2011). Breast Cancer Risk Assessment Tool. Consultado a 20 de Agosto, 2016. Disponível em <https://www.cancer.gov/bcrisktool/about-tool.aspx#gail>
- National Cancer Institute. (2013). Genetic Testing for Hereditary Cancer Syndromes. Consultado a 30 de Agosto, 2016. Disponível em <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/genetics/genetic-testing-fact-sheet>
- National Cancer Institute. (2015a). Risk Factors for Cancer. Consultado a 1 de Agosto, 2016. Disponível em <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk>
- National Cancer Institute. (2015b). Tumor Markers. Consultado a 2 de Setembro, 2016. Disponível em <https://www.cancer.gov/about-cancer/diagnosis-staging/diagnosis/tumor-markers-fact-sheet>
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2016a). ESR1 estrogen receptor 1. Consultado a 18 de Setembro, 2016. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2099#gene-markers>
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2016b). PGR progesterone receptor. Consultado a 18 de Setembro, 2016. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5241>
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2016c). MKI67 marker of proliferation Ki-67. Consultado a 8 de Outubro, 2016. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4288>

National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2016d). MUC1 mucin 1, cell surface associated. Consultado a 12 de Outubro, 2016. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4582>

National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2016e). TP53 tumor protein p53. Consultado a 15 de Outubro, 2016. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7157>

National Comprehensive Cancer Network. (2015). Genetic/Familial. High Risk Assessement: Breast or Ovarian. Consultado a 20 de Julho, 2016. Disponível em [https://www.tri-kobe.org/nccn/guideline/gynecological/english/genetic\\_familial.pdf](https://www.tri-kobe.org/nccn/guideline/gynecological/english/genetic_familial.pdf)

National Comprehensive Cancer Network. (2016a). Stage 0 Breast Cancer. Consultado a 15 de Junho, 2016. Disponível em [https://www.nccn.org/patients/guidelines/stage\\_0\\_breast/](https://www.nccn.org/patients/guidelines/stage_0_breast/)

National Comprehensive Cancer Network. (2016b). Breast cancer risk reduction. Consultado a 1 de Agosto, 2016. Disponível em [http://ladiesfirstproviders.vermont.gov/sites/ladiesfirst/files/pdf/NCCN/breast\\_risk.pdf](http://ladiesfirstproviders.vermont.gov/sites/ladiesfirst/files/pdf/NCCN/breast_risk.pdf)

National Human Genome Research institute. (2010). The Human Genome Project Completion: Frequently Asked Questions. Consultado a 28 de Setembro, 2016. Disponível em <https://www.genome.gov/11006943/human-genome-project-completion-frequently-asked-questions/>

Onitilo, A. A. Engel, J. M., Greenlee, R. T. & Mukesh, B. N. (2009). Breast cancer subtypes based on ER/PR and Her2 expression: comparison of clinicopathologic features and survival. *Clin Med Res.* 7(1-2), 4-13. doi: 10.3121/cm.2009.825.

Osborne, C., Wilson, P. & Tripathy, D. (2004). Oncogenes and Tumor Suppressor Genes in Breast Cancer: Potential Diagnostic and Therapeutic. *The Oncologist*, 9(4), 361-377. doi: 10.1634/theoncologist.9-4-361

- Papadakis, M. A., McPhee, S. J. (2015). Current: Medical Diagnosis and Treatment. (54<sup>a</sup> Edição), Breast (pp 706-730). McGraw Hill, Lange Medical Books. Disponível em <http://cld.persianguig.com/preview/oPF45aYwCJ/CURRENT%20Medical%20Diagnosis%20and%20Treatment%20%20www.ketabcom-2015.pdf>
- Petrucelli, N., Daly, M. B. & Feldman, G. L. (2013). BRCA1 and BRCA2 Hereditary Breast and Ovarian Cancer. Consultado a 20 de Outubro, 2016. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1247/>
- Pines, J. (2006). Mitosis: a matter of getting rid of the right protein at the right time. *Trends in Cell Biology*, 16(1), 55-63. doi: 10.1016/j.tcb.2005.11.006
- Poznak, C. V., Somerfield, M. R., Bast, R. C., Cristofanilli, M., Goetz, M. P., Gonzalez-Angulo, A. M. & Harris, L. N. (2015). Use of Biomarkers to Guide Decisions on Systemic Therapy for Women With Metastatic Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *Journal of Clinical Oncology*, 33(24), 2695-2704. doi: 10.1200/JCO.2015.61.1459
- Rabaça, C. (2007). Fisiopatologia Oncológica. In A.M. Pinto (Eds.), *Fisiopatologia - Fundamentos e Aplicações* (pp. 291-315). Portugal: Lidel.
- Rahman, N. (2014). Realising the Promise of Cancer Predisposition Genes. *Nature*, 505(7483), 302-308. doi: 10.1038/nature12981
- Registo Oncológico Nacional. (2010). Tumores mais frequentes, por sexo, 2010. Consultado a 30 de Maio, 2016. Disponível em [https://issuu.com/ipoporto/docs/ro\\_nacional\\_2010](https://issuu.com/ipoporto/docs/ro_nacional_2010)
- Rudolph, A., Chang-Claude, J. & Schmidt, M. K. (2016). Gene-environment interaction and risk of breast cancer. *Br J Cancer*, 114(2), 1723-31. doi: 10.1245/s10434-012-2256-z

- Saeed, B. U., Jalal, N., & Ashraf, M. (2012). Roles of Cyclin Dependent Kinase and Cdk-Activating Kinase in Cell Cycle Regulation: Contemplation of Intracellular Interactions and Functional Characterization. *Global Journal of Medical Research*, 12(11), 46-52.
- Saghir, N. S., Zgheib, N. K., Assi, H. A., Khoury, K. E., Bidet, Y., Jaber, S. M., ... Uhrhammer, N. (2015). BRCA1 e BRCA2 Mutations in Ethnic Lebanese Arab Women With High Hereditary Risk Breast Cancer. *The Oncologist*, 20(4), 357-64. doi: 10.1634/theoncologist.2014-0364
- Seker, M. M., Yucel, B., Seker, A., Ay Eren, A., Bahar, S., Celasun, G., ... Bahceci, A. (2014). Treatment and prognosis of breast cancer in elderly: Different from young patients? *European Geriatric Medicine*, 5(4), 261-264. doi: 10.1016/j.eurger.2014.02.004
- Siddig, A., Mohamed, A. O., Awad, S., Hassan, A. H., Zilahi, E., Al-Haj, M., & Adem, A. (2008). Estrogen receptor  $\alpha$  gene polymorphism and breast cancer. *Ann N Y Acad Sci*, 1138, 95-107.
- Siddiqui, I. A., Sanna, V., Ahmad, N., Sechi, M. & Mukhtar, H. (2015) Resveratrol nanoformulation for cancer prevention and therapy. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1-12. doi: 10.1111/nyas.12811
- Sirvent, A., Benistant, C. & Roche, S. (2008). Cytoplasmic signalling by the c-Abl tyrosine kinase in normal and cancer cells. *Biol Cell*. 100(11), 617 – 631. doi: 10.1042/BC20080020.
- Srivastava, A., Banerjee, K., Ganguly, G., Yadav, N. & Chauhan, R. (2006). Cell Cycle and Cell Division. In *Textbook for class XI Biology* (pp. 162 – 172). NCERT
- Stratton, M. R. & Rahman, N. (2008) The emerging landscape of breast cancer susceptibility. *Nature genetics*. 40(1), 17-22.



- Surekha, D., Sailaja, K., Rao, D. N., Raghunadharao, D. & Vishnupriya, S. (2009). Oestrogen receptor beta (ERbeta) polymorphism and its influence on breast cancer risk. *J Genet*, 88(2), 261-6.
- Väli, U., Brandström, M., Johansson, M. & Ellegren H. (2008). Insertion-deletion polymorphisms (indels) as genetic markers in natural populations. *BMC Genetics*. 9(8). doi: 10.1186/1471-2156-9-8
- Wang, Y., Cortez, D., Yazdi, P., Neff, N., Elledge, S. J. & Qin, J. (2000) BASC, a super complex of BRCA1-associated proteins involved in the recognition and repair of aberrant DNA structures. *Genes Dev*, 14(8), 927-39.
- William Foulkes Lab. (2016). Breast cancer predisposition genes. Consultado a 20 de Setembro, 2016. Disponível em <http://www.williamfoulkeslab.com/breast-cancer-predisposition-genes>
- World Health Organization. (2016). Breast cancer: prevention and control. Consultado a 6 de Agosto, 2016. Disponível em <http://www.who.int/cancer/detection/breastcancer/en/index2.html>
- Yang, X., Wu, J., Lu, J., Liu, G., Di, G., Chen, C. & Hu, Z. (2015). Identification of a Comprehensive Spectrum of Genetic Factors for Hereditary Breast Cancer in a Chinese Population by Next-Generation Sequencing. *Plos one*, 10(4), 1-20. doi: 10.1371/journal.pone.0125571
- Yadav, R., Sen, R. & Preeti. (2012) International Journal of advanced biological research. *Role of receptors in breast cancer*, 2(4), 561-571.

## Anexos



**Anexo I - Breast Cancer Risk Assessment Tool (BCRAT).** (National Cancer Institute, 2011)

Risk Tool

(Click a question number for a brief explanation, or [read all explanations.](#))

1. Does the woman have a medical history of any breast cancer or of ductal carcinoma in situ (DCIS) or lobular carcinoma in situ (LCIS) or has she received previous radiation therapy to the chest for treatment of Hodgkin lymphoma?

Select ▼

2. Does the woman have a mutation in either the BRCA1 or BRCA2 gene, or a diagnosis of a genetic syndrome that may be associated with elevated risk of breast cancer?

Select ▼

3. What is the woman's age?  
*This tool only calculates risk for women 35 years of age or older.*

Select ▼

4. What was the woman's age at the time of her first menstrual period?

Select ▼

5. What was the woman's age at the time of her first live birth of a child?

Select ▼

6. How many of the woman's first-degree relatives - mother, sisters, daughters - have had breast cancer?

Select ▼

7. Has the woman ever had a breast biopsy?

Select ▼

7a. How many breast biopsies (positive or negative) has the woman had?

Select ▼

7b. Has the woman had at least one breast biopsy with atypical hyperplasia?

Select ▼

8. What is the woman's race/ethnicity?

Select ▼

8a. What is the sub race/ethnicity?

Select ▼

Calculate Risk >